

# Mise en place d'un protocole d'estimation des densités de *Myrmica sabuleti* (Hymenoptera, Formicidae) par transects d'appâts.

Théotime Colin

17 Juin 2013

UE Conduite de Projet

Encadrants : Bernard Kaufmann et Julien Grangier, accompagnés par Gaëlle Chmargounof



*Myrmica sabuleti*, Théotime Colin

## Introduction

Les papillons de la famille des Lycénidés ont besoin d'interagir avec différents organismes pour accomplir leur cycle de développement complet. Leurs chenilles, en particulier, passent par un ou plusieurs stades phytophages, et par des stades myrmécophiles (*i.e.*, en interaction étroite avec des fourmis) éventuellement liés à un changement de régime alimentaire (Thomas, 1989).

Parmi ces papillons, ceux du genre *Maculinea* sont particulièrement menacés et font l'objet d'un plan national d'action (PNA) (Dupont, 2010). Ils sont généralement présents dans des pelouses sèches, milieux par ailleurs riches en espèces rares et sensibles (Annexes, Photos 1 à 5). Du fait de leurs exigences écologiques importantes, les papillons *Maculinea* sont utilisés comme « espèces parapluies » pour la protection de ces espèces qui partagent leur habitat (Spitzer et al., 2009).

Ces papillons sont en effet particulièrement sensibles aux modifications, pour la plupart liées aux activités humaines, qui impactent leurs macro-habitats. L'isolement des populations, ainsi la fragmentation et l'abandon des pelouses sèches entraînant la fermeture du milieu (Muller, 2002), seraient les causes principales du déclin des populations actuellement observé chez plusieurs espèces (Dupont, 2010). Par ailleurs, tout ce qui impacte négativement les organismes nécessaires au développement larvaire des papillons est susceptible d'affecter indirectement ces derniers. Par exemple, les fauches effectuées pendant la période de floraison empêchent la ponte du papillon, le développement de la larve, et pourraient impacter le papillon ou certaines fourmis hôtes comme l'espèce *Myrmica sabuleti* qui semble liée à la hauteur des plantes sur les sites à *Maculinea* (Thomas et al., 1998 ; Casacci et al., 2011). La disparition soit des plantes hôtes des adultes, soit des plantes prédatées par les larves aux stades phytophages, ou encore des espèces de fourmis avec lesquels ils interagissent, s'avèrerait donc fatale aux populations de *Ma.arion*.

L'espèce *Ma.arion*, dont le cycle de développement est particulièrement complexe et la niche écologique très étroite, fait l'objet d'une protection renforcée (Annexes, Tableau 1). Ce papillon a en effet besoin de deux hôtes pour finir son développement larvaire et l'adulte ne se nourrit que du nectar produit par un nombre très limité d'espèces florales (Pauler et al., 1995). L'adulte pond ses œufs dans les bourgeons floraux de ses plantes hôtes, comme les Thymus du genre *Thymus* et le Serpolet *Origanum vulgare*. L'influence que peut avoir la présence de fourmis sur le choix du site de ponte reste discutée (Thomas et al., 2001 ; Patricelli et al., 2011). La chenille passe alors par quatre stades larvaires phytophages avant de se laisser tomber sur le sol. Une fois au sol, elle est incapable de se déplacer (Thomas, 2002) : il est nécessaire qu'une fourmi de l'espèce hôte la rencontre et, après une phase d'interactions complexes (Elmes & Thomas, 1992), la ramène au nid. C'est à ce moment que le taux de survie est le plus faible : la dessiccation et la prédation pèsent lourdement sur la survie des larves. Chez *Ma.alcon*, la mortalité a été estimée à 85% (Als et al., 2001). Une fois dans la fourmilière, la larve de *Ma.arion* se nourrira principalement du couvain de la fourmilière et sera éventuellement nourrie par les fourmis. Ce comportement de la part des fourmis serait dû à un mimétisme à la fois chimique (Akino et al., 1999) : les hydrocarbures cuticulaires de la larve du papillon sont proches de ceux des larves de fourmis, et acoustique : les chenilles émettent des stridulations proches de celles des reines de fourmis (Elmes et al. 2002 ; Barbero et al. 2009). Enfin, le papillon achève son développement et quitte la fourmilière au début de l'été suivant, après y être resté 10 mois (Thomas et al., 1989).

*Maculinea arion* peut se développer chez cinq espèces de fourmis différentes *My.sabuleti*, *My.scabrinodis*, *My.schencki*, *My.lobicornis* and *My.hellenica* (Sielezniew & Marcin, 2010). L'hôte le plus commun en France semble être *My.sabuleti*. En effet, d'après la littérature, seuls quelques adultes sont notés comme ayant émergé de nids de *My.scabridonis*. Les autres espèces de fourmis ne sont pas citées comme hôtes dans les études liées à *Ma.arion* pour la France (Thomas et al., 1989 ; Elmes et al., 1997).

Les fourmis jouent donc un rôle majeur dans le cycle du papillon. Cependant, les communautés de fourmis présentes sur les sites de ponte du papillon sont très mal connues alors qu'elles sont susceptibles d'influencer la répartition du papillon. **Nous essaierons donc de caractériser les communautés de fourmis des pelouses sèches en nous intéressant aux patrons de distribution des fourmis hôtes.**

Nous nous concentrerons principalement sur les fourmis du genre *Myrmica*, hôtes de *Ma.arion*. Bien que les fourmis soient un des enjeux majeur de la compréhension de la répartition des *Maculinea* cités dans le PNA, la densité de leurs nids est une des variables les moins étudiées parmi celles nécessaires à la compréhension de l'écologie du papillon. Cela s'explique par la durée et la complexité d'une recherche de nids exhaustive sur le terrain. **Nous chercherons donc à déterminer si l'on peut remplacer cette méthode de dénombrement des fourmilières par une estimation de la densité réalisée à partir d'occurrences des fourmis sur des transects d'appâts.** Cette méthode permettrait de faciliter les études qui portent sur le papillon et la densité des nids des fourmis hôtes.

**En réalisant ces mesures, nous chercherons également à déterminer si la présence de *Myrmica* hôtes reflète le nombre de nids dans la zone alentours.**

**Enfin, nous essaierons de détecter des phénomènes de compétition entre fourmis pouvant influencer sur la répartition et la densité des nids de *Myrmica*.**

## Matériel et Méthodes

Les zones étudiées sont des pelouses sèches de dimensions variables situées sur des communes appartenant à la Communauté de Communes de l'Isle Crémieu, en Isère. Sept pelouses sèches ont été étudiées (Annexes, Figure 23) par transects, parmi ces sept, seuls cinq ont fait l'objet d'une recherche exhaustive de nids à cause des conditions météorologiques défavorables. Ces pelouses sèches présentent un intérêt car elles ont été préalablement étudiées (Marciau et al., 1999) et que l'on peut donc y choisir des sites avec ou sans *Ma.arion*. Les modes de gestion varient également d'une pelouse à l'autre (fauche, pâturage ou abandon). On peut donc s'attendre à des différences au niveau des communautés de plantes, de lycènes et de fourmis qui permettront une comparaison plus informative des différents sites.

### 1) Inventaire des fourmis

- Par transects d'appâts

La capture de fourmis par appâts est une méthode à la fois rapide et efficace pour détecter les espèces de fourmis des milieux tempérés (Groc et al., 2007). Sur chaque site, un transect d'une longueur totale de 400 mètres est disposé de manière à couvrir les zones sur lesquelles des inventaires réalisés en 2012 par l'association Lo Parvi ont révélé la présence d'*O. vulgare*. 100 appâts sont disposés le long de ces transects. La longueur maximale au-delà de laquelle seules de rares fourrageuses s'aventurent est estimée à 2m pour les différentes espèces de *Myrmica* (Elmes, 1975) hormis pour *My.rubra* que l'on suppose absente des pelouses sèches en raison de sa préférence pour les milieux humides et frais (Elmes et al., 1997). La pose d'un appât tous les quatre mètres semble donc être un compromis acceptable en tenant compte de la surface des terrains et du nombre d'appâts requis. La probabilité que les fourmis d'un nid situé à équidistance de deux appâts puissent y fourrager simultanément, compte tenu de la présence probable de fourmis d'autres espèces entre ce nid éventuel et les deux appâts, est très faible.

Chaque appât correspond à un carré de papier cartonné de 3cm de côté sur lequel sont disposés une goutte de miel et une boulette de rillettes de thon. Ce mélange composé de lipides, glucides et protéines est très attractif pour l'ensemble des espèces de fourmis fourrageant à la surface du sol. En raison de la densité du contenu de cet appât, les fourmis sont obligées d'y rester plusieurs minutes pour ingérer les aliments présents et l'appât contient encore du miel et des rillettes après quelques heures.

Deux passages sont effectués, le premier 30min après avoir placé les appâts, le deuxième 1h après le premier passage. Cela permet de détecter les espèces qui découvrent rapidement les ressources mais s'en font chasser par de plus compétitrices (1<sup>er</sup> passage), et celles qui ne trouvent ou ne s'emparent que tardivement des ressources (2<sup>ème</sup> passage). Durant chacun de ces passages, le maximum d'ouvrières jusqu'à 20 de chacun des « types » apparents de

fourmis sont récoltées. Il est difficile d'estimer ce nombre sur le terrain, ce explique des prélèvements pour lesquels plus de 20 fourmis ont été récoltés. Les fourmis des deux passages sont conservées en alcool à 70° séparément afin d'obtenir des données sur la co-occurrence des espèces.

Ce protocole permet à une équipe formée de quatre personnes de réaliser l'ensemble du transect durant la période matinale d'activité maximale de fourrage des *Myrmica*. Cette période débute à 8h30 au plus tard et dure jusqu'à 12h30 en été (Thomas, 2002).

- Par recherche des fourmilières

Le dénombrement de fourmilières au sol est une méthode théoriquement exhaustive permettant de détecter toutes les fourmilières présentes dans un quadrat. Pour étudier le lien entre la présence de *Myrmica* sur les appâts décrits précédemment et la densité de nids environnants, nous avons effectué cette méthode de dénombrement de nids autour de deux appâts voisins (i.e., distants de 4m) dont l'un était visité par des *Myrmica* et l'autre non, lorsque cela était possible.

La surface du sol est retournée à la main ou à l'aide d'un couteau par au moins 4 expérimentateurs. Ces derniers avancent le long d'une ligne perpendiculaire au transect d'appâts, de manière à chercher les fourmis dans un quadrat de 4 mètres de côté autour de chaque appât. La position de chaque nid découvert au sein du quadra est mesurée à l'aide d'un décimètre gradué. Comme les nids correspondent à des poches d'ouvrières ou de couvain, la position est précise au décimètre près mais la forme et la surface des nids varient. Un maximum d'ouvrières jusqu'à 20 sont prélevées directement dans le nid et placées en alcool à 70° pour réaliser une identification précise en laboratoire.

Le nombre de quadrats dépend du nombre de personnes disponibles. Il s'agit d'un travail long et difficile : en une après-midi, quatre personnes peuvent au plus chercher des fourmilières sur 32m<sup>2</sup>, soit deux quadrats.

## 2) Identifications

Les fourmis forment une famille d'hyménoptères comportant certains groupes particulièrement difficiles à identifier. Les identifications sont réalisées sur tous les individus à l'aide d'une loupe binoculaire (grossissement maximal \*120) et de différentes clés d'identifications basées sur des discriminants fonctionnant en combinant plusieurs caractères (Wardlaw et al., 1998 ; Seifert, 2007 ; Radchenko & Elmes, 2010). La combinaison des discriminants se calculant généralement sur la moyenne des caractères mesurés sur les fourmis d'un même nid, au moins trois ouvrières sont mesurées lorsque l'identification n'est pas évidente. Pour certains groupes comme les *Tetramorium* ou les *Lasius gr. alienus*, des identifications moléculaires seront effectuées par séquençage d'un fragment de Cytochrome Oxydase I. Les fourmis sont donc triées et mises en conservation dans de l'alcool à 90° placé à -20°c afin de conserver au mieux l'ADN.

## 3) Analyses

Les calculs de déterminants de corrélation, d'occurrences et de moyennes, ont été calculés à l'aide d'Excel 2010. Dans le but de déterminer les espèces les plus représentatives des communautés de fourmis de pelouse sèche, un histogramme représentant le nombre de sites sur lesquels l'espèce est présente a été réalisé. Le pourcentage moyen d'occurrence sur les appâts par espèce sur le total des sites permet de déterminer les espèces fourrageant le plus sur les pelouses sèches étudiées.

La comparaison entre les résultats obtenus sur les appâts situés dans les quadrats et les fourmilières détectées au sein des quadrats a été faite par regroupement des données en classes :

Vrai positif	Faux positif	Faux négatif	Vrai négatif
Appât <b>avec</b> <i>My.sabuleti</i> et Quadrat <b>avec</b> <i>My.sabuleti</i>	Appât <b>avec</b> <i>My.sabuleti</i> et Quadrat <b>sans</b> <i>My.sabuleti</i>	Appât <b>sans</b> <i>My.sabuleti</i> et Quadrat <b>avec</b> <i>My.sabuleti</i>	Appât <b>sans</b> <i>My.sabuleti</i> et Quadrat <b>sans</b> <i>My.sabuleti</i>

Ce regroupement permet par la suite d'obtenir les pourcentages de « Vrais résultats » et de « Faux résultats ». On définit les résultats comme vrais en partant de la supposition que s'il y a présence *My.sabuleti* sur un appât, c'est qu'il y a présence de *My.sabuleti* dans le quadrat et que lorsqu'il y a absence de *My.sabuleti* sur l'appât, il y a absence de *My.sabuleti* dans le quadrat.

Les courbes d'accumulations ont été réalisées à l'aide du logiciel EstimateS version 9 à l'aide des formules corrigées pour Chao1 et Chao2 et des paramètres par défaut. Elles représentent le nombre d'espèces par nombre d'appâts sans extrapolation (Annexes, Figure 1). Elles permettent de mesurer l'effort d'échantillonnage effectué lors des transects d'appâts et ainsi de déterminer s'il est suffisant pour l'interprétation des résultats.

Les tests de comparaisons de moyennes et de corrélations, ainsi que la transformation des données en matrices pour le test de Mantel sont conduits sur le logiciel R v.2.13.2. Le test paramétrique de Pearson a été préféré pour ces analyses intermédiaires au test par rang de Spearman. En effet, le nombre d'ex-aequo dans les données ne permet pas de calculer la p-value du test de Spearman.

Les arbres de parcimonie ont été réalisés à l'aide du programme Pars de la suite Phylip v.3.67. Les arbres de matrices de distances, les Analyses en Composantes Principales (ACP) et les tests de Mantel (basés sur les matrices de distances euclidiennes entre appâts et de distances binaires entre composition des fourmis sur les appâts) ont été réalisés à l'aide du programme Past v.2.17c.

Le premier arbre est simulé à l'aide du logiciel Past, par méthode de matrice de distance à l'aide d'une analyse en partitionnement de données (cluster analysis) basée sur la mesure de Horn (Horn, 1966). Il regroupera donc les sites les plus proches au niveau de la composition de la communauté de fourmis présentes sur chaque site. La mesure de Horn tient compte des espèces rares (Magurran & McGill, 2011) qui, dans notre cas, peuvent être indicatrices des différences entre les sites étudiés. Cet arbre a été créé en utilisant les occurrences relatives des espèces sur les appâts.

Un deuxième arbre réalisé par le programme Pars de la suite Phylip v3.67 permettra d'évaluer les similarités entre communautés par une deuxième approche en utilisant la méthode de parcimonie de Wagner. La méthode de parcimonie est ici appliquée en supposant un mécanisme de type « évolutif », par exemple par divergence entre des sites auparavant parfaitement semblables et continus entre eux. L'arbre regroupe les sites en fonction de l'absence, de la présence et de l'occurrence relative des espèces. Chaque espèce de chaque site est analysée comme étant un caractère, auquel est attribué un état représentant l'absence ou les occurrences relatives par classes sur les appâts (Annexes, Tableau 2).

## Résultats

Au moins 25 espèces de fourmis ont été récoltées sur l'ensemble des sept sites par les méthodes d'appâts et de recherche de nids (Annexes, Tableau 3). Le nombre d'espèces total est difficile à déterminer sans réaliser d'analyses moléculaires pour les *Tetramorium*, les *Tapinoma* et pour les *Lasius gr. alienus*.

Les courbes d'accumulation (Annexes, Figure 1) obtenues n'atteignent pas de plateaux mais semblent s'en rapprocher, plus ou moins en fonction des sites. Par exemple, le plateau serait probablement atteint plus rapidement pour le site de Leyrieu que pour celui de Carisieu, même si ces différences semblent mineures. Pour l'ensemble des sites, si 46.39% des *My.sabuleti* sont détectées lors des deux passages, 35.05% de le sont que lors du premier et 18.56% ne le sont que lors du deuxième. Cela confirme l'importance de réaliser deux passages successifs sur les appâts.

Cinq espèces, *Tapinoma sp*, *Myrmica sabuleti*, *Formica gagates*, *Lasius alienus* et *Camponotus aethiops*, sont présentes sur presque tous les sites (sept au total). Les fourrageuses les plus présentes sont les *Tapinoma sp*, *Myrmica sabuleti* et *Formica gagates* qui se détachent très clairement des autres espèces présentes sur les pelouses

sèches par des occurrences moyennes sur les appâts comprises entre 25% et 35% alors que les autres espèces ne présentent que des occurrences moyennes inférieures à 7% (Figure 19).

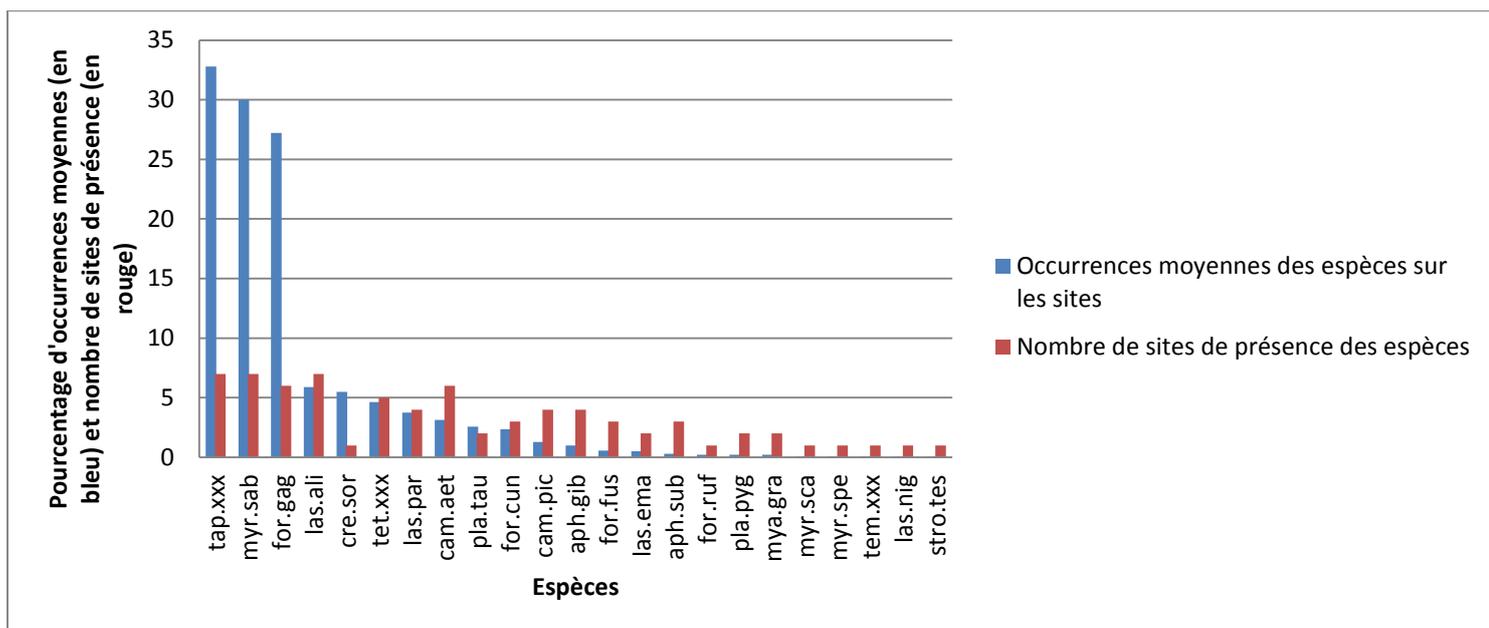


Figure 19 : Présence et occurrences moyennes sur l'ensemble des sites des différentes espèces de fourmis.

L'arbre réalisé avec Past (Annexes, Figure 2) permet de mettre en évidence des différences dans les communautés de fourmis entre les sites. Ces différences sont plus ou moins importantes entre chaque site. Deux groupes de sites sont ainsi obtenus, l'un regroupant Lempis, Moras et les deux sites très proches de Carisieu et Signalet, et l'autre regroupant Leyrieu et les deux sites très proches de Saint Julien et Saint Baudille. L'arbre réalisé avec Pars (Annexes, Figure 3) est différent du premier. Lempis et Leyrieu se retrouvent dans des situations inversées par rapport au premier arbre, même ce deuxième arbre place aussi les sites de Saint Julien et de Saint Baudille comme étant très proches.

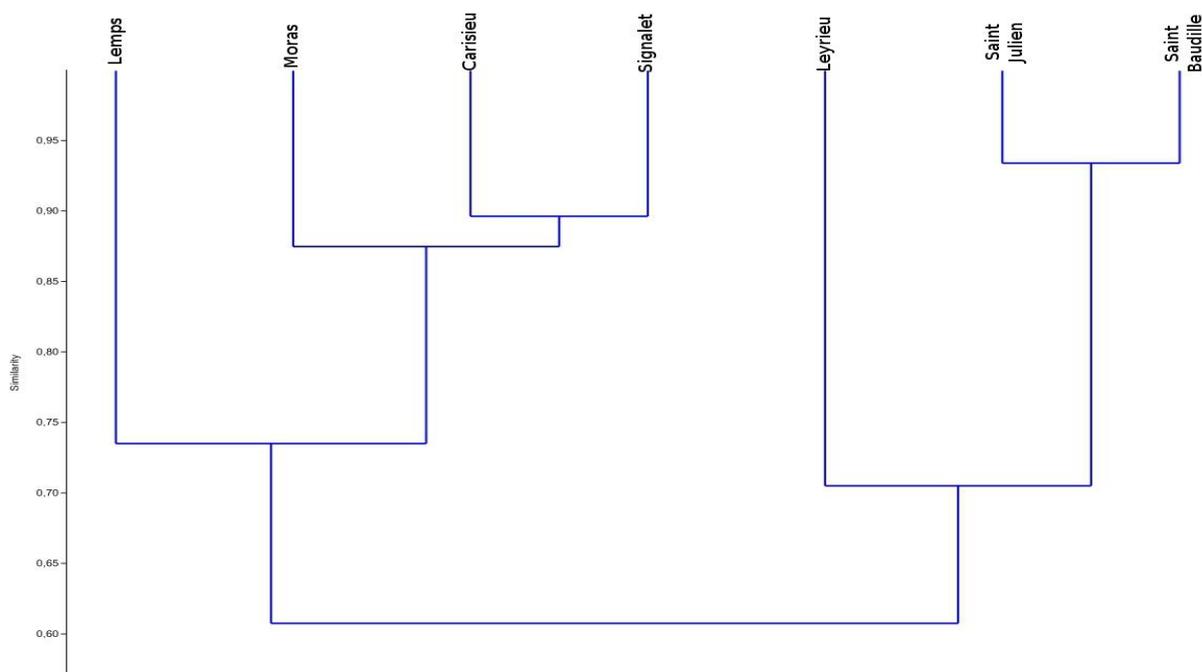


Figure 2 : Arbre des sites basé sur une matrice de distance des communautés de fourmis à l'aide de la mesure de Horn.

Les sites étudiés étant des pelouses sèches en lisières de forêts ou de champs, et contenant parfois des éléments susceptibles d'influencer la répartition des *My.sabuleti*, les représentations spatiales de la présence de *My.sabuleti* pour les deux passages cumulés est indispensable à la compréhension de la structure des populations de *My.sabuleti* de chacun des sites. Cette représentation se fait à l'aide du logiciel Excel en tenant compte de l'abondance des fourmis sur chaque appât afin d'obtenir une meilleure idée de l'activité de fourrage des nids au sein des sites (Annexes, Figures 4 à 10). Afin d'appuyer la lecture graphique, des tests de Mantel, rejetant tous l'hypothèse d'une autocorrélation spatiale, ont été effectués sur les sites de St Julien ( $p=0.2701$ ,  $\alpha=0.05$ ), Leyrieu ( $p=0.1168$ ,  $\alpha=0.05$ ), et Signalet ( $p=0.5393$ ,  $\alpha=0.05$ ). On peut s'attendre à des résultats similaires pour les autres sites étudiés qui seront analysés lorsque les échantillonnages auront été terminés.

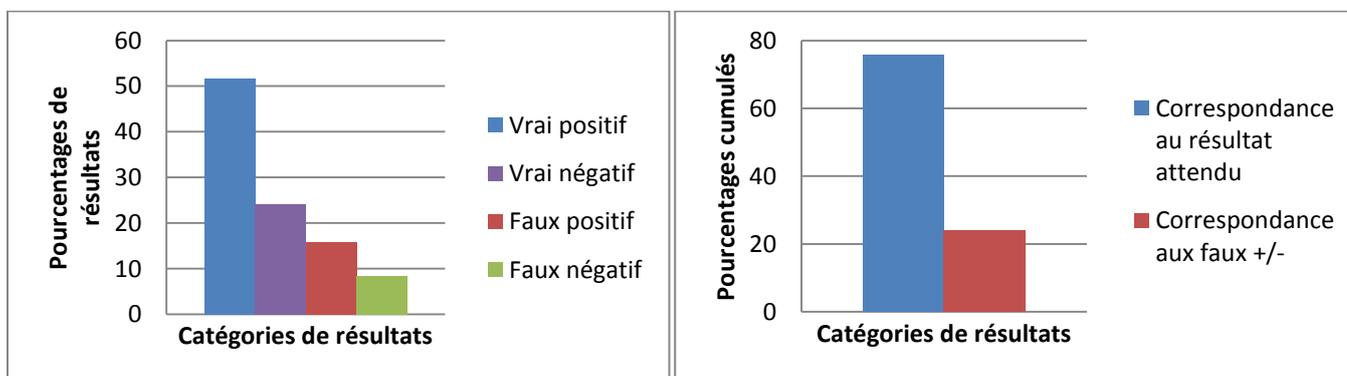


Figure 11a et 11b : Pourcentage de résultats conformes aux résultats attendus, pour chaque catégorie ou pour les « vrais » et « faux » résultats cumulés.

Nos résultats montrent que s'appuyer sur l'occurrence d'ouvrières sur les appâts pour conclure à la présence ou l'absence de nids proches de *My.sabuleti* s'avère être fiable dans 75% des cas et erroné dans 24% des cas. Parmi les erreurs, on note que les faux positifs (présence de fourmis sur l'appât alors qu'aucun nid proche n'est présent) sont majoritaires (Figure 11a et 11b). Les répartitions attendue et théorique (Annexes, Tableau 4) ne sont pas significativement différentes ( $\chi^2$  ;  $p=0.2873$  ;  $\alpha=0.05$ ).

La représentation graphique de la densité de nids en moyenne dans les quadrats d'un site en fonction du % d'occurrences de *My.sabuleti* sur chaque site (Figure 20) permettra d'aborder la question de la viabilité du protocole par transects d'appâts au niveau de l'ensemble des pelouses sèches étudiées. Un test de Pearson ( $p=0.1106$ ,  $\alpha=0.05$ ,  $cor=0.6644$ ) rejette la corrélation entre densité réelle et pourcentages d'occurrences de *My.sabuleti* sur les appâts.

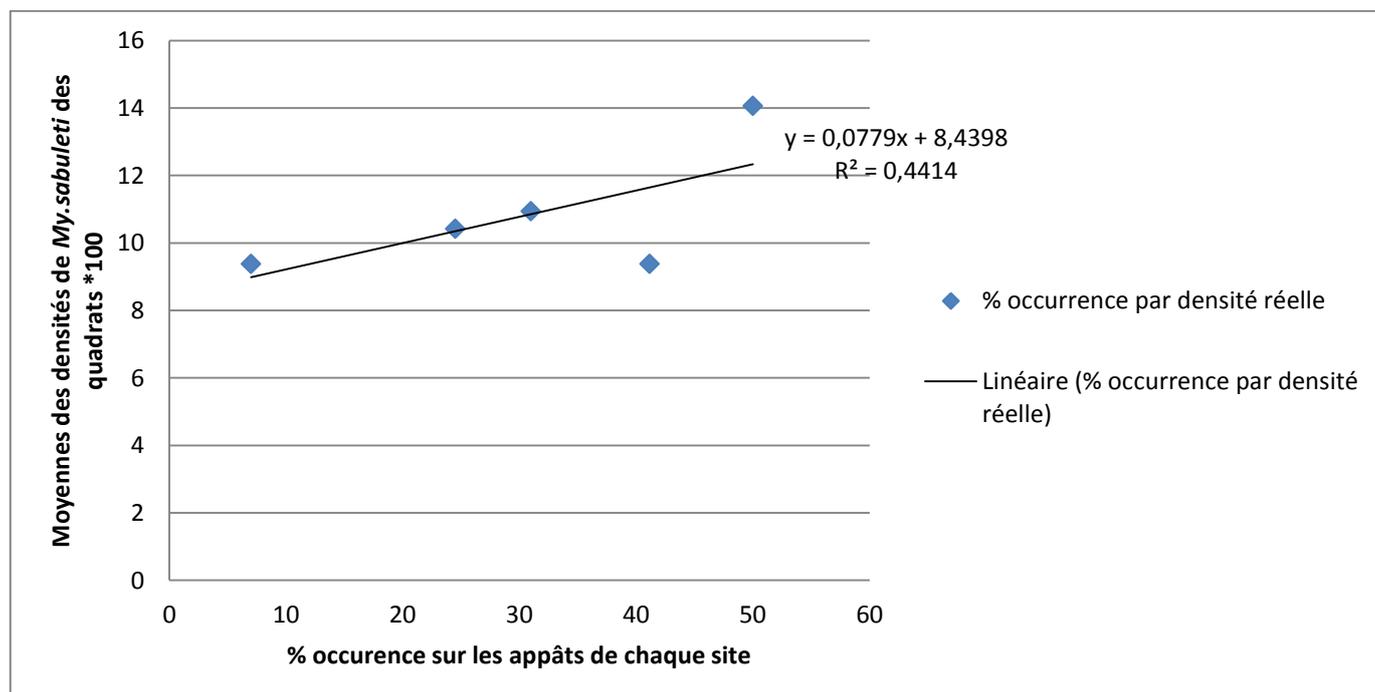


Figure 20 : Densité réelle par rapport à l'occurrence en pourcentage par site pour *My.sabuleti*.

Afin de déterminer si la présence de *My.sabuleti* sur un appât reflète le nombre de nids présents dans le quadrat autour de cet appât, le nombre moyen de nids de *My.sabuleti* par quadrat par présence ou absence de *My.sabuleti* sur l'appât du quadrat a été testée par une méthode de permutation.

Tableau 5 : Nombre de nids de *My.sabuleti* dans les quadrats.

Moyenne du nombre de nids de <i>My.sabuleti</i>	
Lorsqu'il y a des <i>My.sabuleti</i> sur l'appât	Lorsqu'il n'y a pas de <i>My.sabuleti</i> sur l'appât
2,25	1
Test de permutation : pas de différences entre les deux moyennes (exactRankTests, perm.test, p=0.501).	

L'analyse d'une éventuelle « compétition » ou au moins d'une « gêne » spatiale réalisée à l'aide d'un test de Pearson rejette une corrélation ( $p=0.1681$ ,  $\alpha=0.05$ ,  $cor=-0.3925309$ ) entre la densité des nids de *My.sabuleti* et la densité des nids des autres espèces (Figure 22).

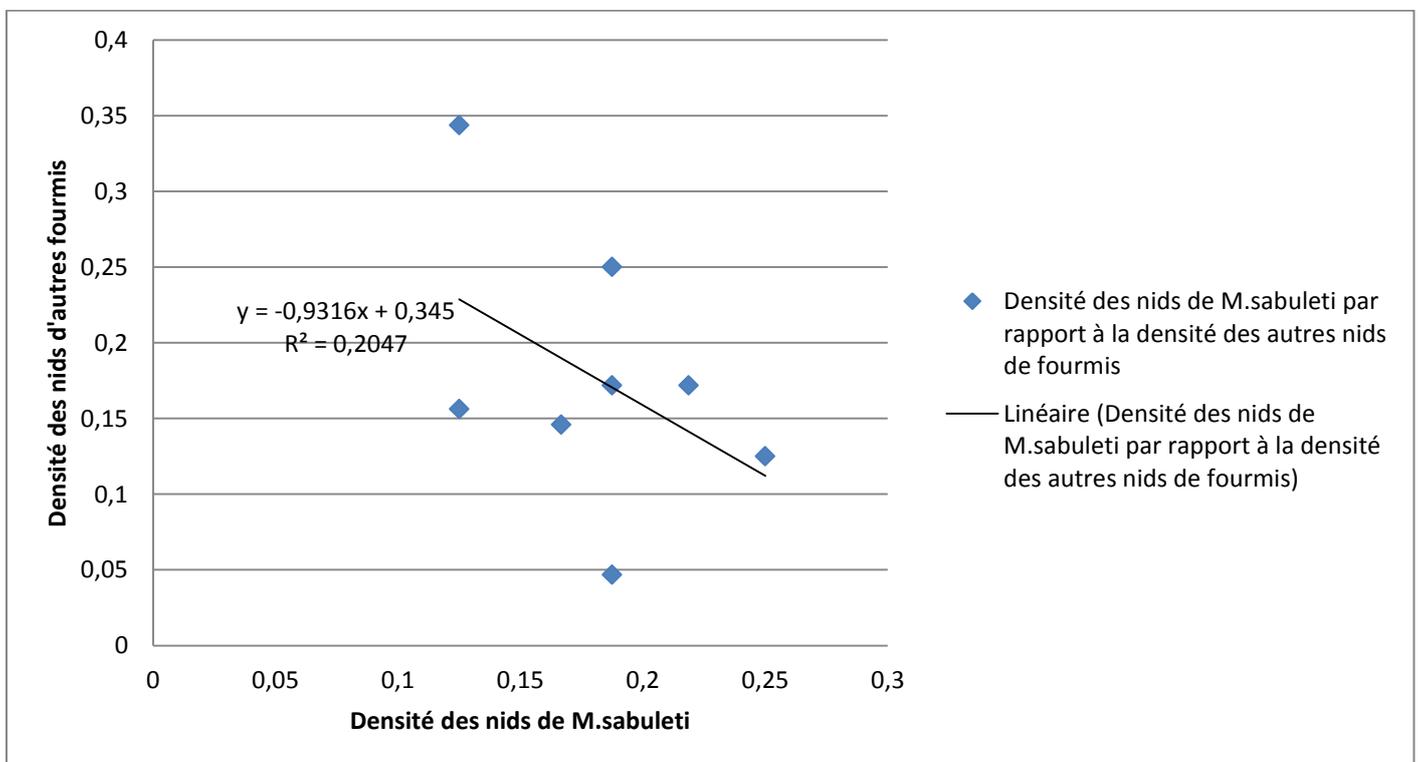


Figure 21 : Densité des nids de *My.sabuleti* par rapport à la densité des autres nids de fourmis.

## Discussion

Notre inventaire a fourni une image assez complète de la myrmécofaune des sites étudiés. Les courbes d'accumulation, à défaut d'atteindre une asymptote, semblent s'en rapprocher. Les espèces supplémentaires qui seraient découvertes si l'on augmentait l'effort d'échantillonnage seraient sans doute des espèces rares, des espèces de litière ou des espèces souterraines qui ont peu d'intérêt pour notre étude centrée sur *My.sabuleti*. Un autre facteur pouvant expliquer les résultats obtenus est la proximité de certains appâts avec d'autres milieux. En effet, on pourrait s'attendre à un effet lisière en bordure de forêts, de prairies ou, moins probablement, de champs.

Les communautés de fourmis correspondent à des communautés de pelouses sèches situées en lisière de forêt, avec des espèces pour certaines typiques des pelouses sèches comme *Camponotus aethiops*, ou d'autres relativement xérophiles présentes dans différents milieux, comme *My.sabuleti*, *Lasius alienus*, *Tetramorium sp* et *Tapinoma sp.*, ainsi que des espèces de lisières de forêt xérophile comme *Formica gagates* (Seifert, 2007). Le site de Lemps est particulièrement exposé au soleil, cela se traduit par la présence de l'espèce *Crematogaster sordidula* en limite nord de sa répartition nationale limitée au pourtour méditerranéen (Blatrix et al., 2013). Il existe, au sein de l'Isle Crémieu, des différences entre les pelouses sèches, qui peuvent par exemple être liées à la gestion ou à l'orientation des sites. Cela se traduit par des différences entre les occurrences relatives des différentes espèces de fourmis calculées au sein des sites et par les différences d'occurrences des espèces entre sites. Les autres espèces présentes sur les pelouses sèches sont moins caractéristiques de ces milieux. Certaines espèces n'ont été trouvées que par recherche de nid, comme *Myrmecina graminicola*, *Solenopsis sp.* et *Lasius myops*, qui sont des espèces principalement souterraines ou de la litière. Il est intéressant de noter qu'à l'échelle de la communauté, le choix de l'horaire durant lequel est effectué le transect impacte l'abondance de certaines espèces sur les appâts. *Myrmica sabuleti* étant au centre de l'étude, nous avons pris la décision de nous concentrer sur sa plage horaire matinale de présence maximale. Pour étudier spécifiquement les communautés de fourmis des pelouses sèches, il serait plus adapté d'effectuer plusieurs transects aux heures différant par les conditions d'hygrométrie, d'ensoleillement et de température, ou d'utiliser des pièges de type « pitfall trap ».

Les arbres hiérarchiques permettent de mettre en avant les ressemblances et différences entre les sites. L'arbre de parcimonie semble peu réaliste, une comparaison des histogrammes respectifs des sites Signalet et Leyrieu (Annexes, Figures 13 à 19) nous permet de voir que ces sites qui semblent très différents sont proches dans l'arbre. Au contraire, l'arbre de matrices de distances semble plus vraisemblable. En effectuant une ACP à l'aide de Past (Annexes, Figure 12), on observe un regroupement proche de celui effectué par ce deuxième arbre. Le regroupement dépend principalement de quatre espèces : *Tapinoma sp.*, *My.sabuleti* et *F.gagates*, qui sont les trois espèces majoritaires dans les pelouses sèches de l'Isle Crémieu, et *Crematogaster sordidula*, très présente sur un unique site.

Le test de Mantel effectué sur le site de St Julien permet de conclure qu'il ne semble pas y avoir d'agréations d'espèces au sein de ce site. Cela permet de penser que la proximité des lisières et des massifs de broussailles n'a pas d'influence particulière sur la distribution des espèces de fourmis au sein des sites. Cependant, il serait nécessaire d'effectuer un test de Mantel sur chacun des sites afin de confirmer cette hypothèse.

Ce résultat est très intéressant car il permet de supposer que les *My.sabuleti* sont réparties de manière équivalente sur les sites étudiés. Cela signifie qu'au sein d'un site, si la densité est suffisante, la position des nids de *My.sabuleti* n'influence pas la répartition de *Ma.arion*.

Il est donc nécessaire de s'intéresser à la densité des nids sur les différents sites. Les analyses de densités ont été réalisées sur des résultats partiels de l'étude menée actuellement par Gaëlle Chmargounof, Julien Grangier et Bernard Kaufmann. Ce rapport présente donc une première analyse avec un nombre de données faible mais qui permet cependant l'observation de tendances. Une fois un nombre de sites suffisant atteint, nous pourrions effectuer une comparaison des données obtenues entre les sites où *Ma.arion* est présent ou absent et renforcer les analyses présentées dans ce premier rapport.

La première approche présente les résultats observés par rapport aux résultats attendus. Il s'agit de la présence ou de l'absence de *My.sabuleti* sur l'appât par rapport à sa présence dans le quadrat. Cela permet d'obtenir des premiers résultats sur la fiabilité de la méthode d'estimation de la densité par transects d'appâts. Dans 76% des cas, l'absence et la présence de *My.sabuleti* sont indicatrices de la présence et de l'absence de l'espèce au sein du quadrat. Ce résultat, dans le cadre d'une approche expérimentale de terrain, et en tenant compte du faible nombre de données, est très encourageant. La mise en place de ce protocole comme un outil pour les gestionnaires place les « faux négatifs », c'est-à-dire la non détection de *My.sabuleti* du quadrat par l'appât, comme le « faux résultat » le plus problématique. Les faux négatifs représentent 8,5% des résultats, on peut espérer résoudre ce problème en

utilisant uniquement les données obtenues en éliminant le biais de la forme du quadrat. Comme nous supposons en effet que les *My.sabuleti* fourragent jusqu'à 2m, il serait préférable de ne pas tenir compte des données des quadrats se situant à la fois dans le quadrat et hors d'un rayon de deux mètres autour de l'appât. La recherche d'espèces susceptibles d'entrer en compétition avec *My.sabuleti*, par exemple par une approche de co-occurrence, pourrait permettre de corriger les résultats obtenus en fonction des occurrences par site pour *My.sabuleti* et les espèces en compétition. Le test de Chi 2 appliqué à ces résultats est significatif, ce qui indique que la méthode de transects d'appâts semble fiable. Cependant, ce test ne devrait pas être appliqué car les effectifs de certaines classes sont inférieurs à 5 (Cochran, 1954). Il pourra probablement être appliqué lorsque l'ensemble des données seront disponibles.

La deuxième approche comparant la densité réelle globale et le pourcentage d'occurrence de *My.sabuleti* par site est une des approches les plus intéressantes. Une fois qu'un nombre de données suffisant aura été obtenu, elle pourrait permettre de calculer très simplement la densité réelle de fourmilières de *My.sabuleti* à partir de l'occurrence sur les appâts. La corrélation positive entre densité et occurrence n'est pour le moment pas significative. Cela résulte probablement du faible nombre de sites étudiés. Une tendance marquée apparaît cependant, la p-value pour ce test étant égale à 0.11. Le poids des différents points de la corrélation n'est pas égal, en effet, entre 2 et 8 quadrats ont été effectués sur les différents sites. Les points comparés n'ont donc pas tous la même fiabilité et il serait intéressant de leur accorder un poids respectif lors du test.

La nombre moyen de nids autour des appâts en fonction de la présence ou de l'absence de *My.sabuleti* sur ces appâts n'est pas significative. Cette comparaison souffre également de la forme du quadrat et du nombre de données très faibles. Avec plus de données, un test de Student, plus puissant que le test de permutation, pourra probablement être effectué.

Enfin, la première approche permettant de détecter une compétition entre fourmis par corrélation négative entre densité de nids de *My.sabuleti* et densité de nids d'autres espèces n'est pas significative d'après le test de Pearson. Ce test est effectué dans des conditions similaires au premier, c'est-à-dire avec un jeu de données faible et sans respect des conditions d'applications. Il sera probablement applicable lorsque des données supplémentaires auront été obtenues. Il permet cependant d'obtenir une tendance, avec une p-value de 0.168, proche du seuil limite arbitraire de 5%. Ce résultat permet de penser qu'il y a une compétition spatiale entre fourmilières, ce qui peut aussi induire une compétition pour l'accès à la nourriture. Par ailleurs, les différences de densité entre les différents sites peuvent conduire à des différences de tailles de fourmilières (Elmes et al., 1997). Il serait intéressant d'effectuer cette analyse en enlevant les *Solenopsis sp.* du jeu de données, en effet, ces fourmis sont cleptoparasites d'autres fourmilières. Par conséquent, elles sont souvent trouvées accolées à d'autres fourmilières et sont susceptibles de modifier les résultats alors qu'il est peu probable qu'il s'agisse d'une espèce empêchant l'installation ou la survie des fourmilières accolées.

L'estimation des densités réelles de fourmilières de *My.sabuleti* par une méthode de transects d'appâts semble donc efficace alors même que le jeu de données n'est pas encore complet. Cette méthode pourra donc être probablement retenue pour des applications de recherche et de conservation. De plus, la très faible présence d'espèces du genre *Myrmica* autres que *My.sabuleti* simplifie la prise en main du protocole par des gestionnaires. Si l'on considère les pelouses étudiées représentatives des pelouses sèches de l'Isle Crémieu, le nombre d'erreurs liées à l'identification resterait très faible (moins de 1%) si l'on supposait que toutes les fourmis du genre *Myrmica* appartiennent à l'espèce *My.sabuleti*. Une fois qu'un nombre suffisant de résultats auront été obtenus pour confirmer les tendances observées et éventuellement pour y appliquer des correctifs, ce protocole à la fois efficace et rapide pourrait être retenu. Le jeu de données obtenu est d'autant plus intéressant qu'il permet d'effectuer les mêmes analyses pour toutes les espèces majoritairement présentes sur les pelouses sèches. Il pourrait aussi permettre d'étudier les interactions entre espèces au sein des pelouses sèches, ou d'expliquer la répartition de *Ma.arion* par rapport aux densités de fourmis. Enfin, ce protocole pourrait favoriser les initiatives visant étudier les relations entre *Ma.arion* et *My.sabuleti*. Il pourrait également être mis en relation avec les inventaires des papillons de l'Isle Crémieu afin de déceler d'éventuelles interactions entre les autres Lycènes et les fourmis présentes.

## Remerciements

Je tiens à remercier tous mes amis du parcours BOP de l'UE TIB, qui ont participé avec enthousiasme aux terrains de Lempis, St Baudille, Carisieu et Moras, ainsi que les étudiants de la licence pro ATIB qui ont participé aux terrains de St Julien et Signalet (et du test effectué à Lavours qui n'est pas inclus). Je remercie également Vincent Bourret, Jérôme Gippet et Eloïse Pons pour leur aide sur le terrain ou devant l'ordinateur.

## Références

- Akino T., Knapp J. J., Thomas J. A., & Elmes G. W. 1999. Chemical mimicry and host specificity in the butterfly *Maculinea rebeli*, a social parasite of *Myrmica* ant colonies. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 266(1427), 1419-1426 p.
- Als T.D., Nash D.R. & Boomsma J.J. 2001. Adoption of parasitic *Maculinea alcon* caterpillars (Lepidoptera: Lycaenidae) by three *Myrmica* ant species. *Anim. Behav.* **62**, 99-106 p.
- Blatrix R., Galkowski C., Lebas C., Wegnez P. 2013. Guide des fourmis de France. Delachaux et Niestlé, 256 p.
- Casacci L. P., Witek M., Barbero F., Patricelli D., Solazzo G., Balletto E., & Bonelli S. 2011. Habitat preferences of *Maculinea arion* and its *Myrmica* host ants: implications for habitat management in Italian Alps. *Journal of Insect Conservation*, 15(1-2), 103-110 p.
- Cochran W. G. 1954. Some methods for strengthening the common  $\chi^2$  tests. *Biometrics*, 10, 417– 451 p.
- Dupont P. (2010). Plan national d'actions en faveur des *Maculinea*. Office pour les insectes et leur environnement-Ministère de l'Ecologie, du Développement durable, des Transports et du Logement, 138 p.
- Elmes G. W. & Thomas J. A. 1992. Complexity of species conservation in managed habitats: interaction between *Maculinea* butterflies and their ant hosts. *Biodiversity & Conservation*, 1(3), 155-169 p.
- Elmes G.W. 1975. Population studies on the genus *Myrmica* (Hymenoptera, Formicidae), with special reference to southern England. Unpublished PhD thesis, University of London, 334 p.
- Elmes G.W., Thomas J.A., Wardlaw J.C., Hochberg M.E., Clarke R.T. & Simcox D.J. 1997. The ecology of *Myrmica* ants in relation to the conservation of *Maculinea* butterflies. *Journal of Insect Conservation* 2, 67-68 p.
- Groc S., Delabie J.H.C., Céréghino R., Orivel J., Jaladeau F., Grangier J., Mariano C.S.F. and Dejean A. 2007. "Ant species diversity in the 'Grands Causses' (Aveyron, France): In search of sampling methods adapted to temperate climates". *C. R. Biologies* 330: 913–922 p.
- Horn H. S. 1966. Measurement of "overlap" in comparative ecological studies. *Am. Naturalist* 100: 419-424 p.
- Magurran A. E., & McGill B. J. 2011. *Biological diversity: frontiers in measurement and assessment*. Oxford: Oxford University Press.
- Marciau R., Grossi J-L., Poulin L., Guendon M., Campagne P. 1999. Inventaire des pelouses sèches de l'île Crémieu. Avenir, 139 p.

- Maurin H. & Keith P. 1994. Inventaire de la faune menacée en France. WWF, MHNH, Nathan, 175 p.
- Muller, S. 2002. Appropriate agricultural management practices required to ensure conservation and biodiversity of environmentally sensitive grassland sites designated under Natura 2000. *Agriculture, ecosystems & environment*, 89(3), 261-266 p.
- Patricelli D., Barbero F., La Morgia V., Casacci L. P., Witek M., Balletto E., & Bonelli S. 2011. To lay or not to lay: oviposition of *Maculinea arion* in relation to *Myrmica* ant presence and host plant phenology. *Animal Behaviour*, 82(4), 791-799 p.
- Pauler R., Kaule G., Verhaagh M. & J. Settele. 1995. Untersuchungen zur Autökologie des Schwarzgefleckten Ameisenbläulings, *Maculinea arion* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Lycaenidae), in Südwestdeutschland. *Nachr. Entomol. Ver. Apollo, N.F.*, 16 (2/3), 147-186 p.
- Radchenko A.G. & Elmes G.W. 2010. *Myrmica* ants (Hymenoptera: Formicidae) of the Old World. *Natura Optima Dux*, Warsaw, 789 p.
- Seifert B. 2007. Die Ameisen Mittel- und Nordeuropas. *Lutra*, 368 p.
- Sielezniew M. 2010. Multiple host-ant use by the predatory social parasite *Phengaris (=Maculinea) arion* (Lepidoptera, Lycaenidae). *Journal of Insect conservation*. 14.2, 141-149 p.
- Spitzer L., Benes J., Dandova J., Jaskova V., & Konvicka M. 2009. The Large Blue butterfly, *Phengaris [Maculinea] arion*, as a conservation umbrella on a landscape scale: The case of the Czech Carpathians. *Ecological Indicators*, 9(6), 1056-1063 p.
- Thomas J. A., & Elmes G. W. 2001. Food–plant niche selection rather than the presence of ant nests explains oviposition patterns in the myrmecophilous butterfly genus *Maculinea*. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 268(1466), 471-477 p.
- Thomas J. A., Simcox D. J., Wardlaw J. C., Elmes G. W., Hochberg M. E., & Clarke R. T. 1998. Effects of latitude, altitude and climate on the habitat and conservation of the endangered butterfly *Maculinea arion* and its *Myrmica* ant hosts. *Journal of Insect Conservation*, 2(1), 39-46 p.
- Thomas J. A. 2002. Larval niche selection and evening exposure enhance adoption of a predacious social parasite, *Maculinea arion* (large blue butterfly), by *Myrmica* ants. *Oecologia*, vol. 132, no. 4, 531–537 p.
- Van Swaay C. & Warren M. 1999. Red Data Book of European Butterflies (Rhopalocera). *Nature and environment*, N°99, 260 p.
- Wardlaw J.C, Elmes G.W, Thomas J.A. 1998. Techniques for studying *Maculinea* butterflies: II. Identification guide to *Myrmica* ants found on *Maculinea* sites in Europe. *Journal of Insect Conservation*, 2, 119–127 p.

## Sommaire des figures & annexes

Tableau 1	Statuts actuels de conservation du papillon <i>Maculinea arion</i> applicables à la France.	P 14
Figure 1	Courbes d'accumulations par espèces de fourmis pour chaque transect.	P 14
Tableau 2	Liste des espèces récoltées lors des transects et du dénombrement de colonies par sous-familles.	P 14
Tableau 3	Classes d'occurrences relatives pour l'analyse en arbres « morphologiques ».	P 15
Figure 2 et 2b	Arbre des sites basé sur une matrice de distance des communautés de fourmis à l'aide de la mesure de Horn.	P 6 et P 16
Figure 3	Arbre de similarité des communautés de fourmis par site basé sur une méthode de parcimonie.	P 15
Figures 4 à 10	Emplacement des appâts visités par <i>My.sabuleti</i> sur les transects des différents sites.	P 17 à 20
Tableau 4	Valeurs observées et attendues avec une erreur maximale de 5% pour la comparaison entre présence et absence de <i>My.sabuleti</i> sur l'appât et dans le quadrat.	P 20
Figures 11a et 11b	Pourcentage de résultats conformes aux résultats attendu, pour chaque catégorie ou pour les « vrais » et « faux » résultats cumulés.	P 6
Figure 12	Analyse en composantes principales, axes 1 et 2 expliquant respectivement 37% et 29% de la variabilité.	P 21
Figures 13 à 18	Histogrammes des occurrences relatives par espèces sur les différents sites.	P 21 à 24
Photos 1 à 5	Illustration de quelques espèces rares ou sensibles observées sur différents sites, respectivement <i>Libellula quadrimaculata</i> , <i>Libelloides coccajus</i> , <i>Orchis ustulata</i> , <i>Lycenidae sp</i> , <i>Callophrys rubi</i> .	P 24 à 26
Tableau 5	Nombre de nids de <i>My.sabuleti</i> dans les quadrats.	P7
Figure 19	Présence et occurrences moyennes sur l'ensemble des sites des différentes espèces de fourmis.	P 6
Figure 20	Densité réelle par rapport à l'occurrence en pourcentage par site pour <i>My.sabuleti</i> .	P 7
Figure 21	Densité des nids de <i>My.sabuleti</i> par rapport à la densité des autres nids de fourmis.	P 8
Figure 22	Position des sites sur l'Isle Crémieu.	P 27

## Annexes

Tableau 1 : Statuts actuels de conservation du papillon *Maculinea arion* applicables à la France.

Convention de Berne (19 septembre 1979)	Annexe II
Liste des espèces protégées en France	Article 2
UICN-2007	Quasi-menacée
Liste rouge européenne (Van Swaay & Warren, 1999)	En danger
Liste rouge Française (Maurin & Keith, 1994)	En danger

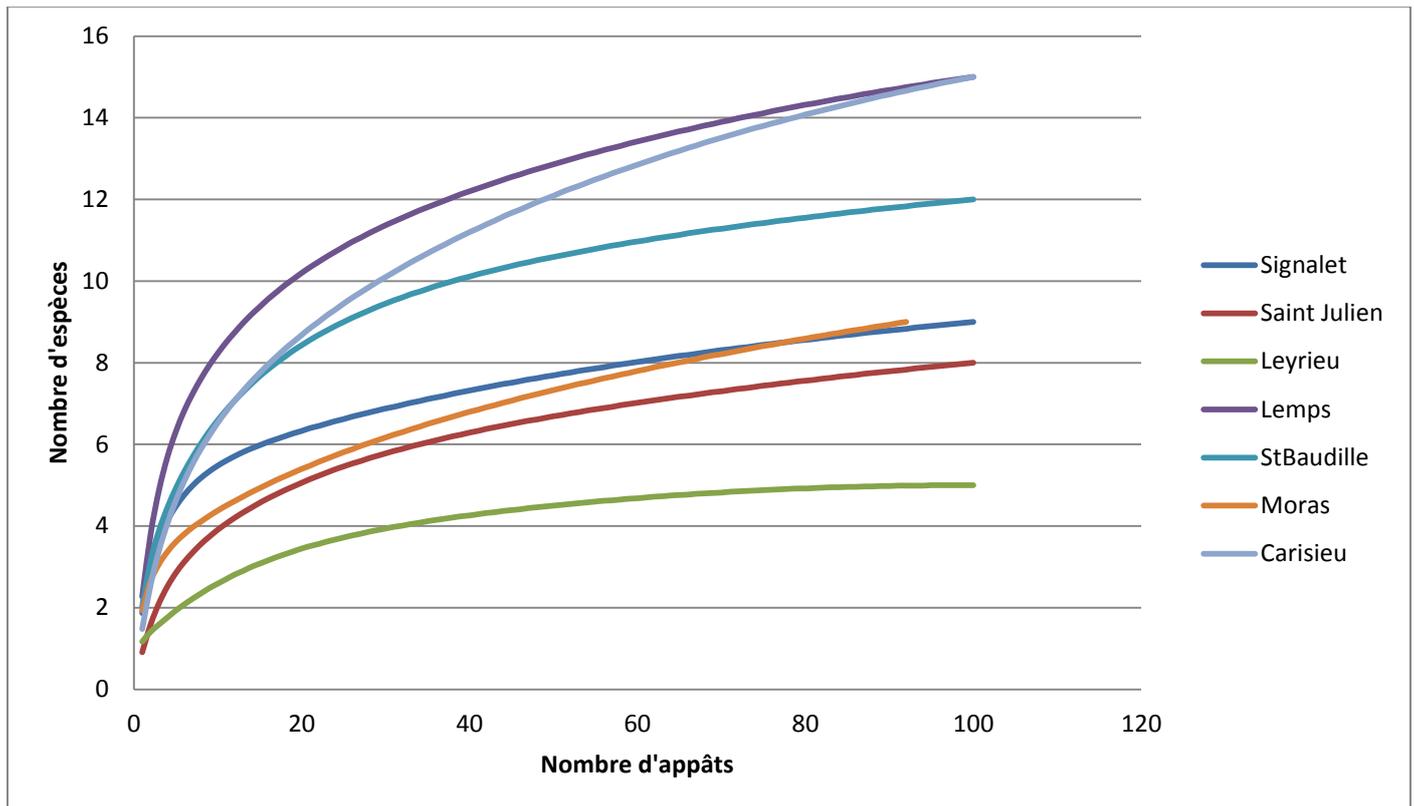


Figure 1 : Courbes d'accumulations par espèces de fourmis pour chaque transect.

Tableau 2 : Liste des espèces récoltées lors des transects et du dénombrement de colonies par sous-familles.

Myrmicinae	Formicinae	Dolichoderinae
<i>Aphaenogaster gibbosa</i>	<i>Camponotus aethiops</i>	<i>Tapinoma</i> sp
<i>Aphaenogaster subterranea</i>	<i>Camponotus piceus</i>	
<i>Crematogaster sordidula</i>	<i>Formica fusca</i>	
<i>Myrmecina graminicola</i>	<i>Formica gagates</i>	
<i>Myrmica sabuleti</i>	<i>Formica rufibarbis</i>	
<i>Myrmica scabrinodis</i>	<i>Lasius alienus</i>	
<i>Myrmica specioides</i>	<i>Lasius emarginatus</i>	
<i>Solenopsis</i> sp	<i>Lasius myops</i>	
<i>Strongylognathus testaceus</i>	<i>Lasius niger</i>	
<i>Temnothorax</i> sp	<i>Lasius paralienus</i>	
<i>Tetramorium moravicum</i>	<i>Plagiolepis pygmea</i>	
<i>Tetramorium</i> sp	<i>Plagiolepis taurica</i>	

Tableau 3 : Classes d'occurrences relatives pour l'analyse en arbres « morphologiques ».

N° de l'état de caractère	Valeurs d'occurrence relative correspondantes
0	0 (absence)
1	]0 ;1]
2	]1 ;10]
3	]10 ;20]
4	]20 ;30]
5	]30 ;40]
6	]40 ;50[
7	50 et plus

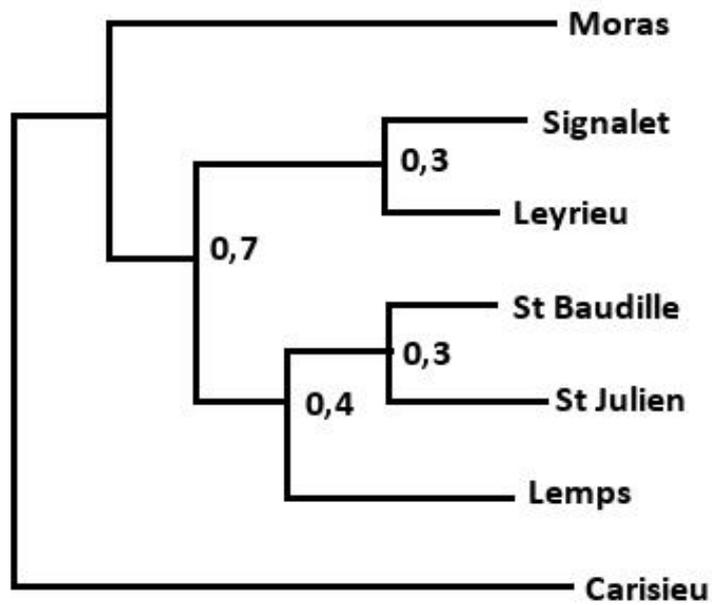


Figure 3 : Arbre de similarité des communautés de fourmis par site basé sur une méthode de parcimonie.

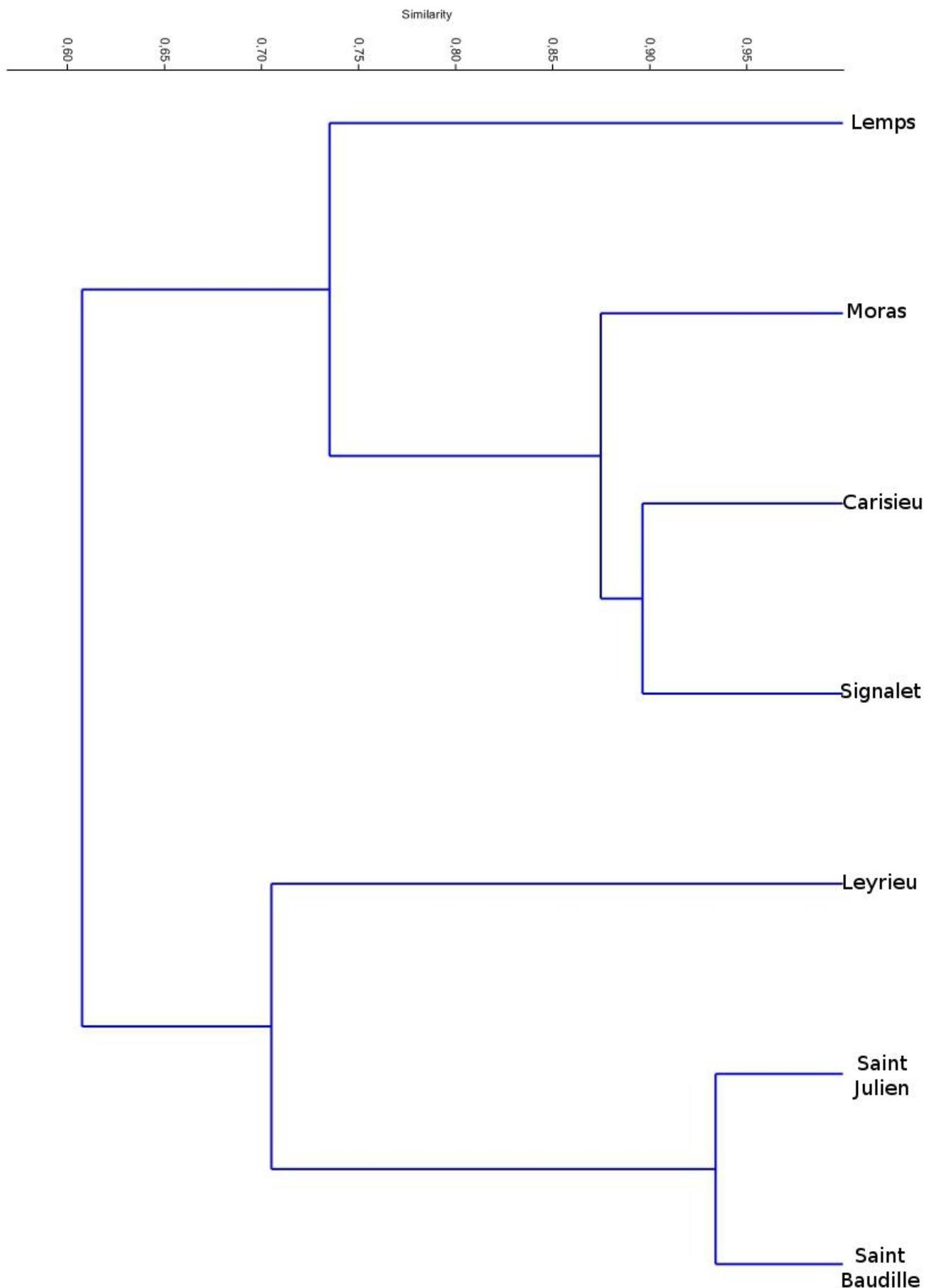


Figure 2b : Arbre des sites basé sur une matrice de distance des communautés de fourmis à l'aide de la mesure de Horn (pleine page).

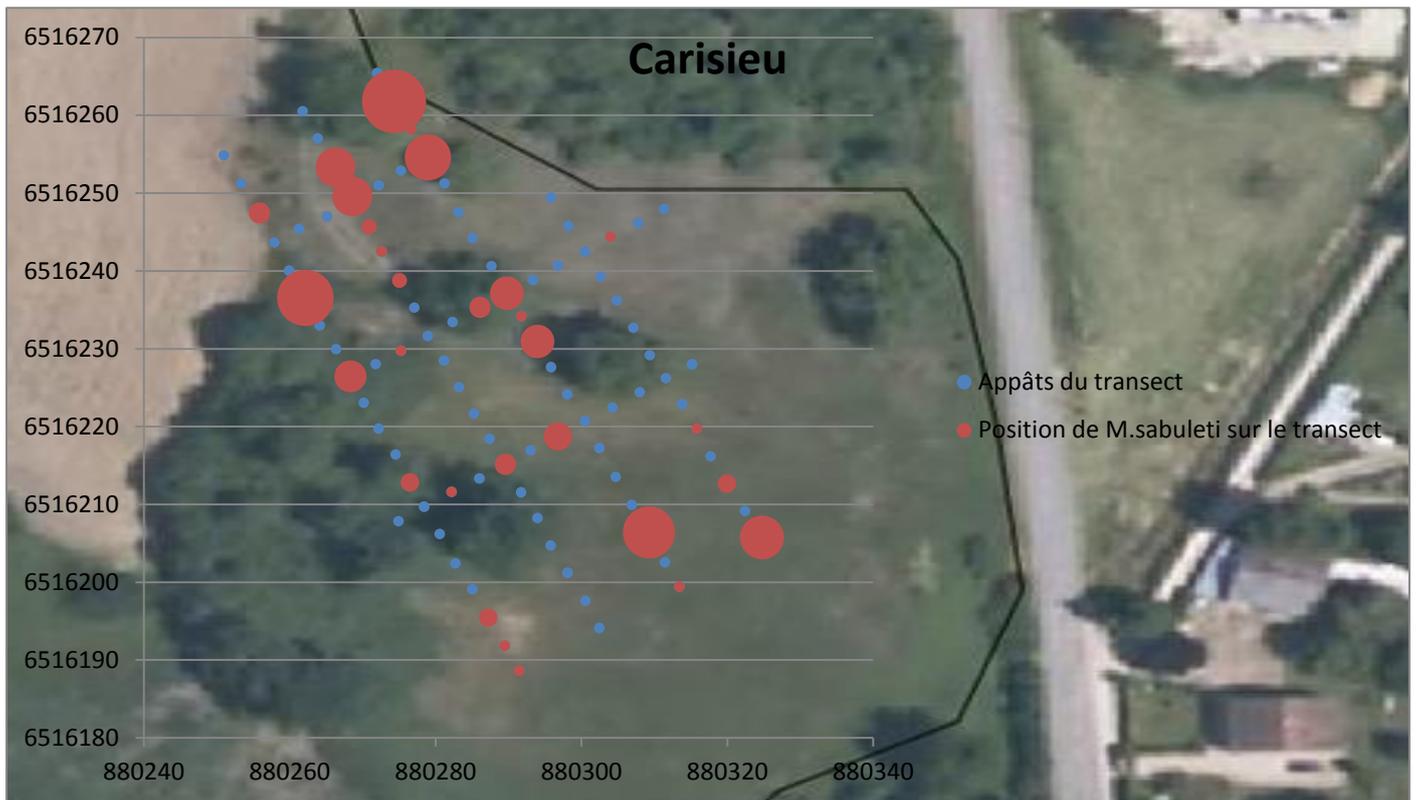


Figure 4 : Emplacement des appâts visités par *My.sabuleti* sur les transects du site Carisieu.

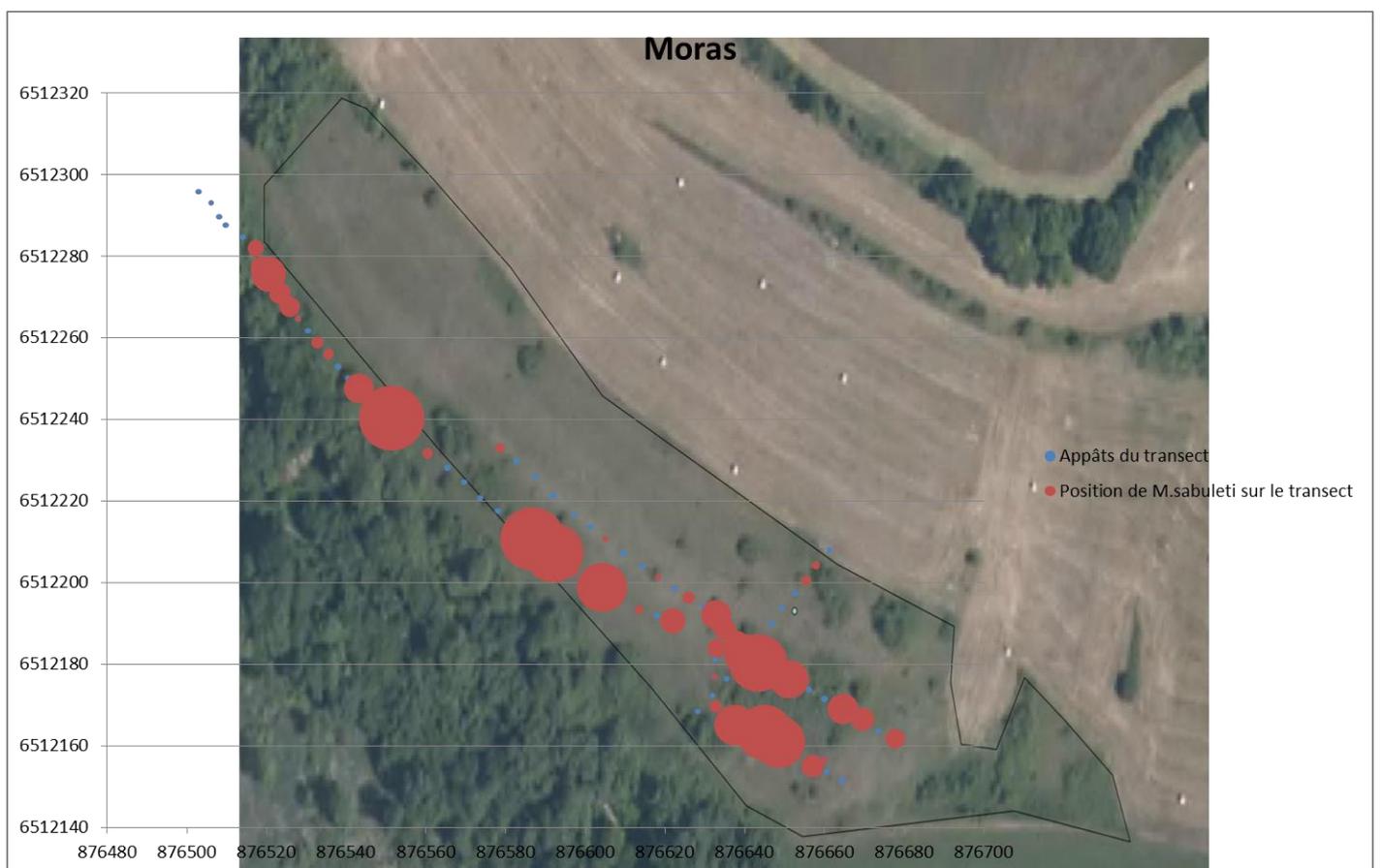


Figure 5 : Emplacement des appâts visités par *My.sabuleti* sur les transects du site Moras.

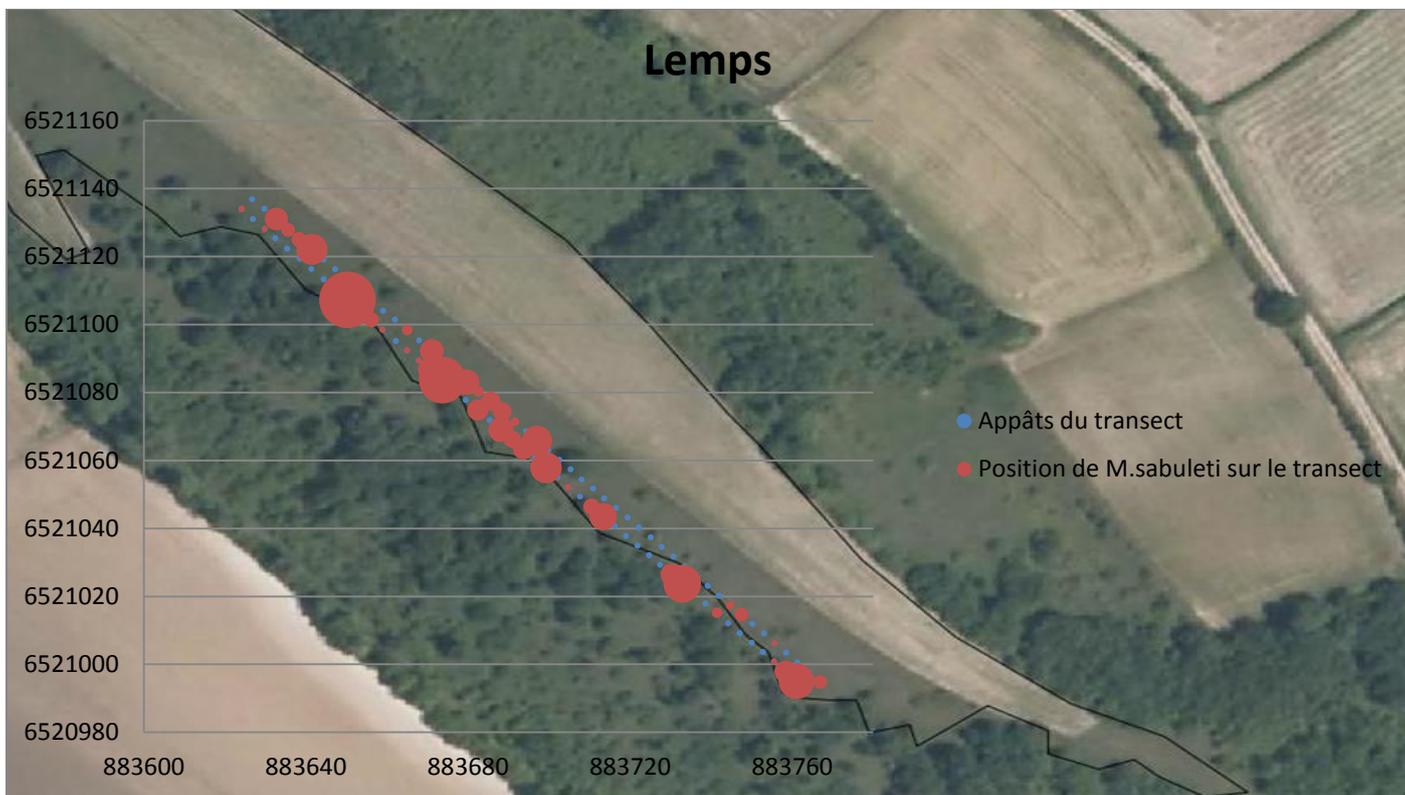


Figure 6 : Emplacement des appâts visités par *My.sabuleti* sur les transects du site Lemps.



Figure 7 : Emplacement des appâts visités par *My.sabuleti* sur les transects du site Saint Baudille.

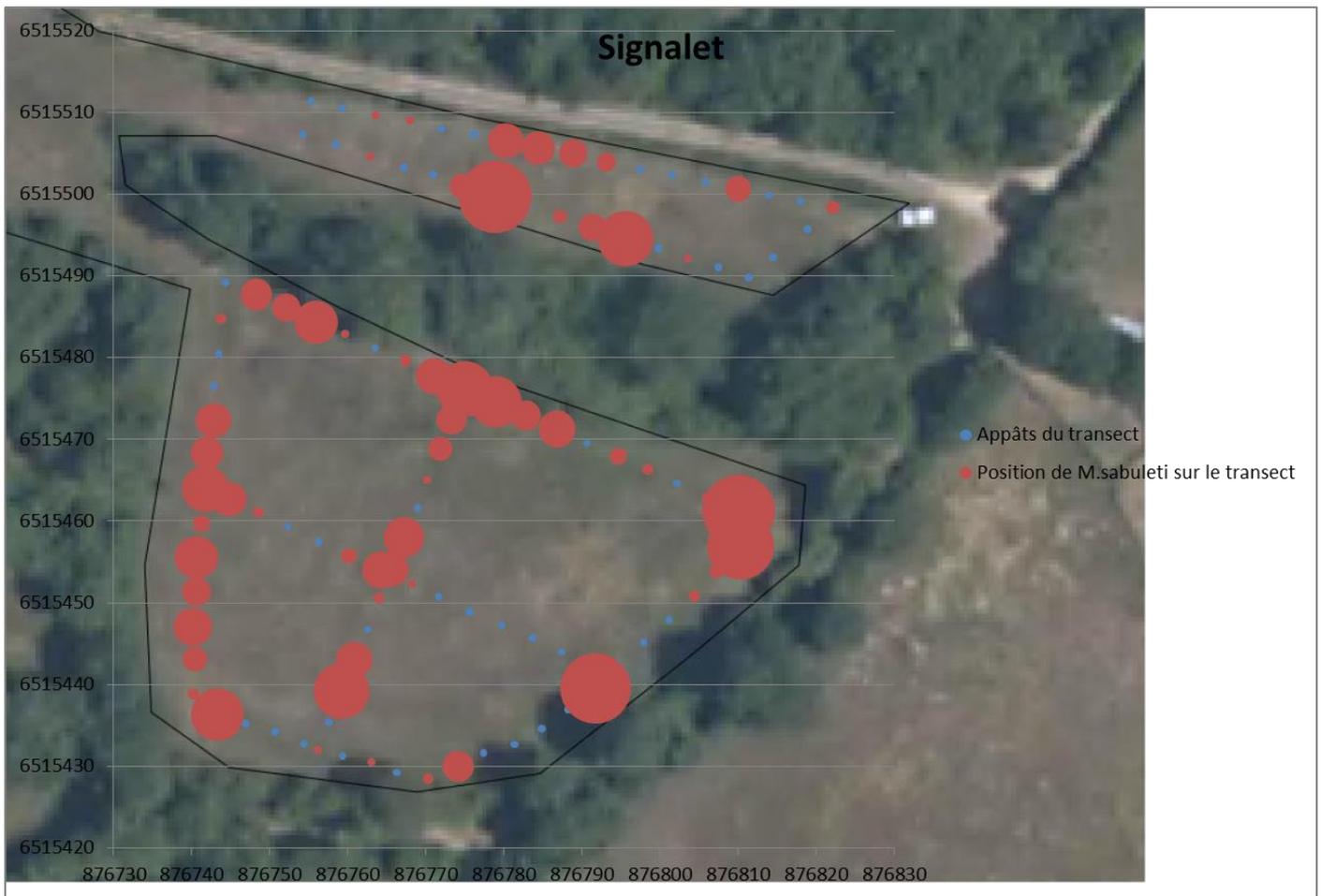


Figure 8 : Emplacement des appâts visités par *My.sabuleti* sur les transects du site Signalet.

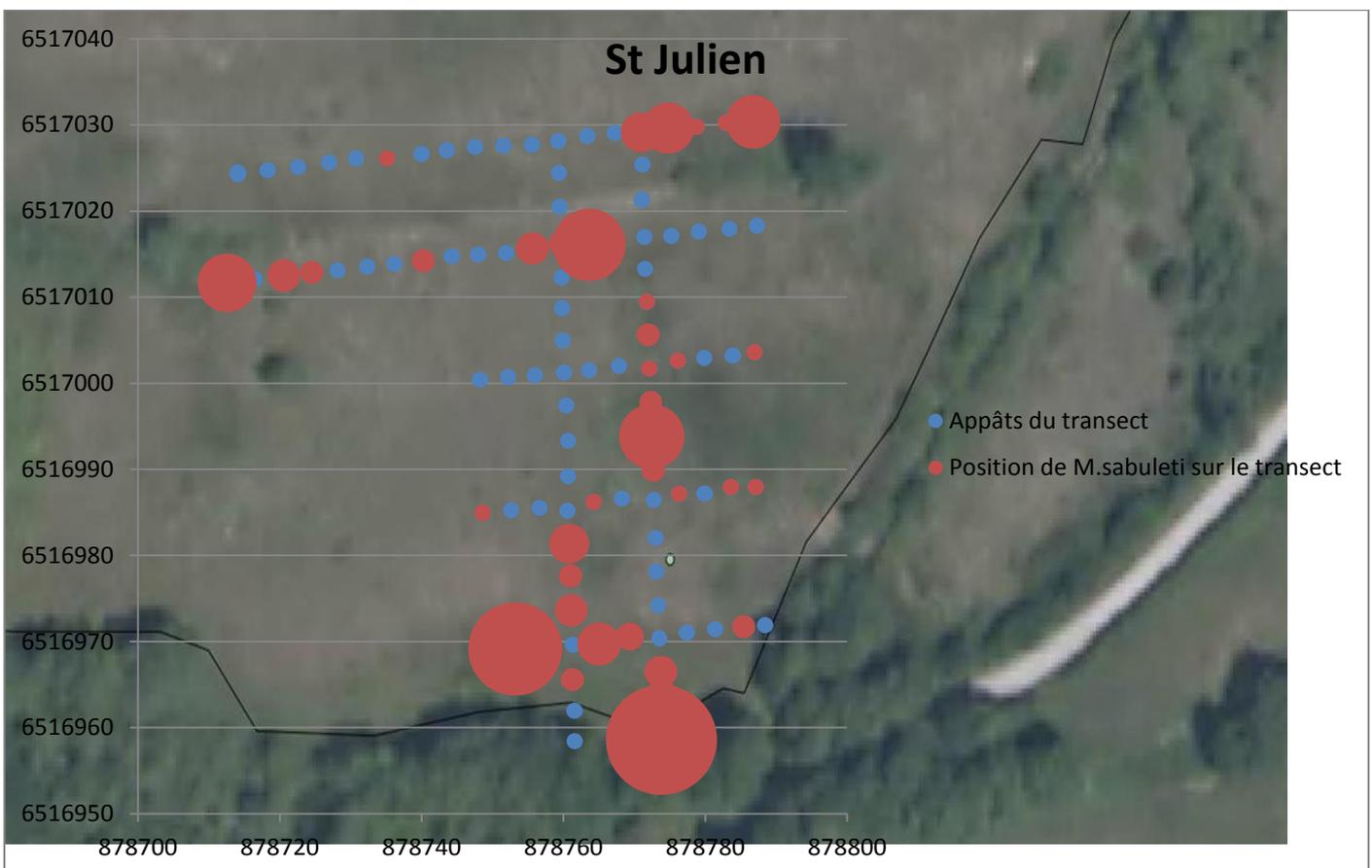


Figure 9 : Emplacement des appâts visités par *My.sabuleti* sur les transects du site Saint Julien.

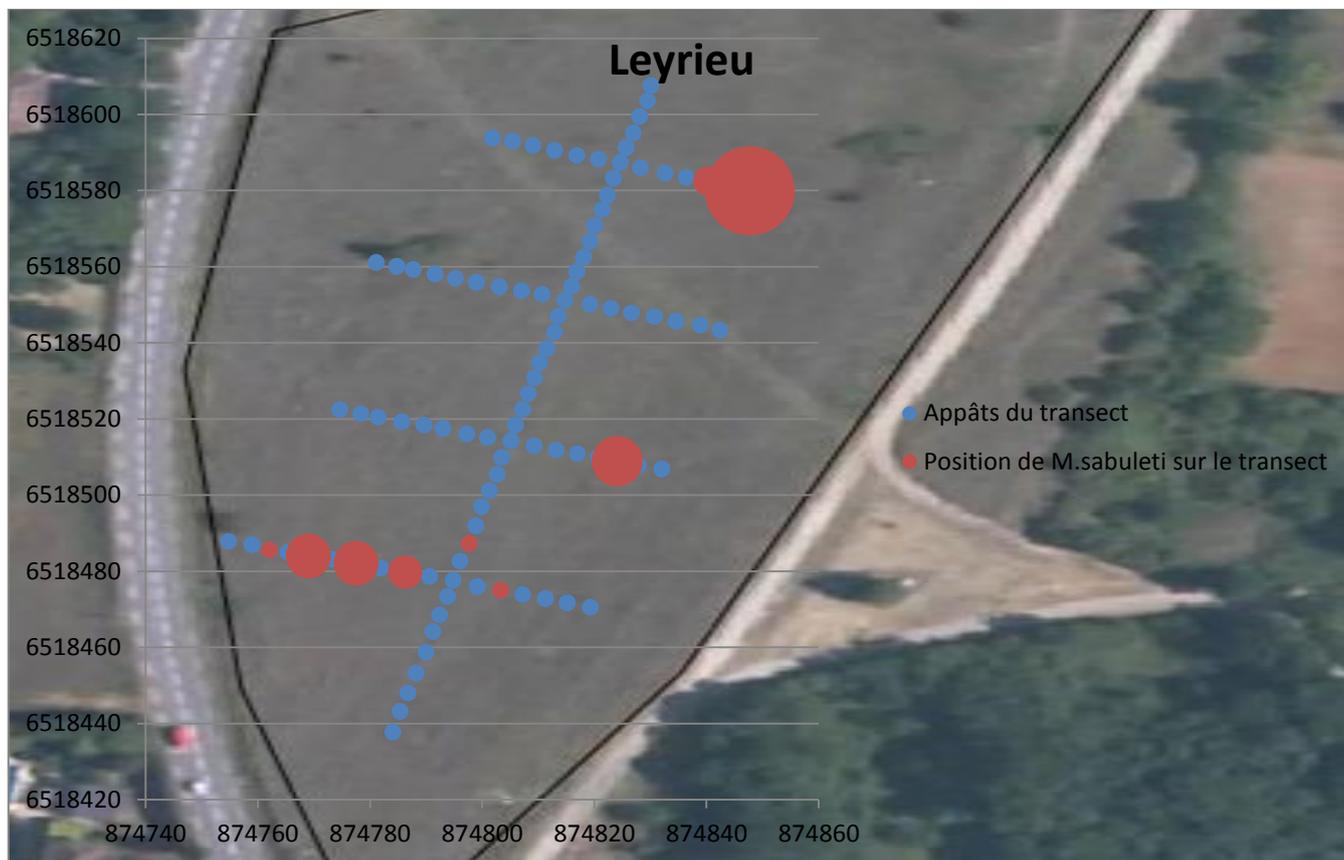


Figure 10 : Emplacement des appâts visités par *My. sabuleti* sur les transects du site Leyrieu.

Tableau 4 : Valeurs observées et attendues avec une erreur maximale de 5% pour la comparaison entre présence et absence de *My. sabuleti* sur l'appât et dans le quadrat.

		Distribution observée		Distribution théorique corrigée		
		Appâts				
Quadrats	<i>My. sabuleti</i>	<u>avec</u>	<u>sans</u>	<u>avec</u>	<u>sans</u>	
		<u>avec</u>	12	2	15,8	1,2
		<u>sans</u>	5	5	1,2	5,8

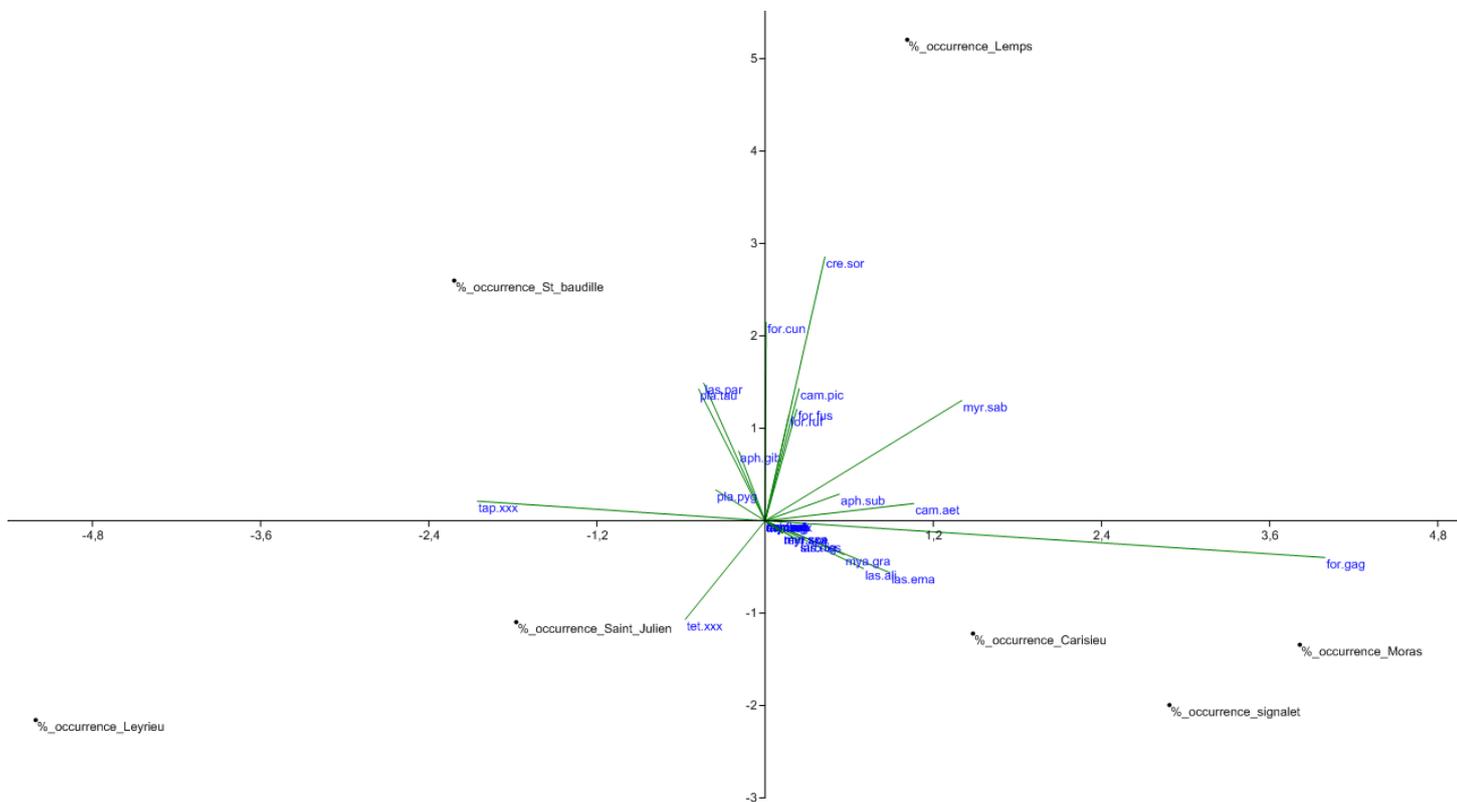
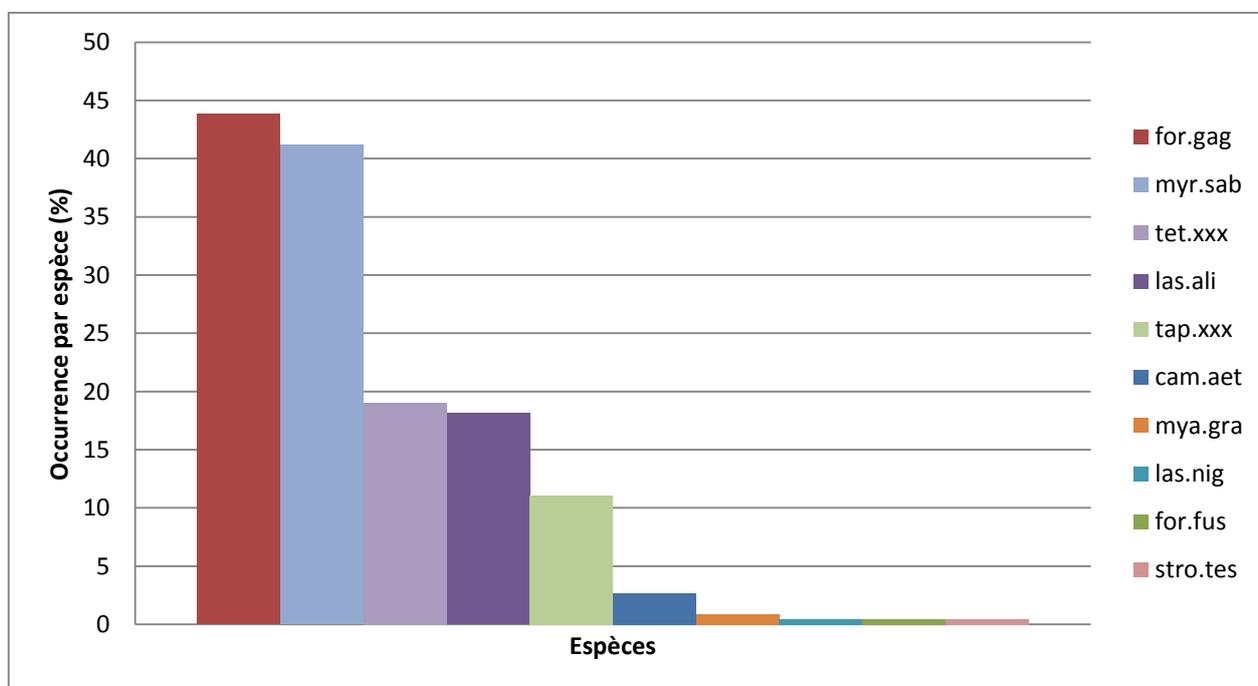
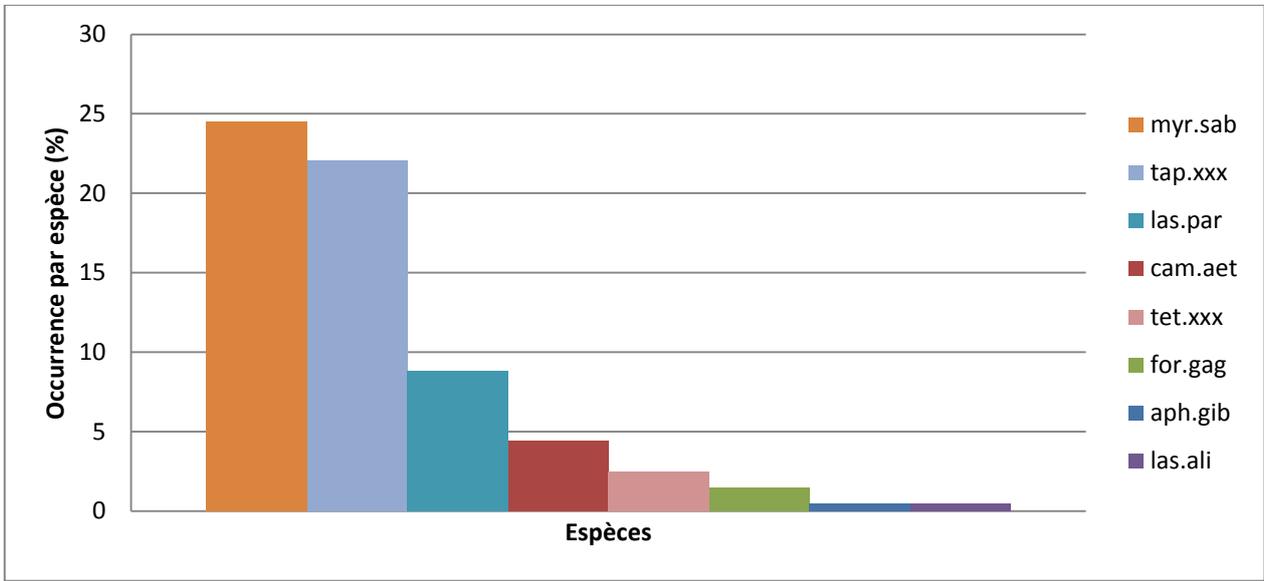


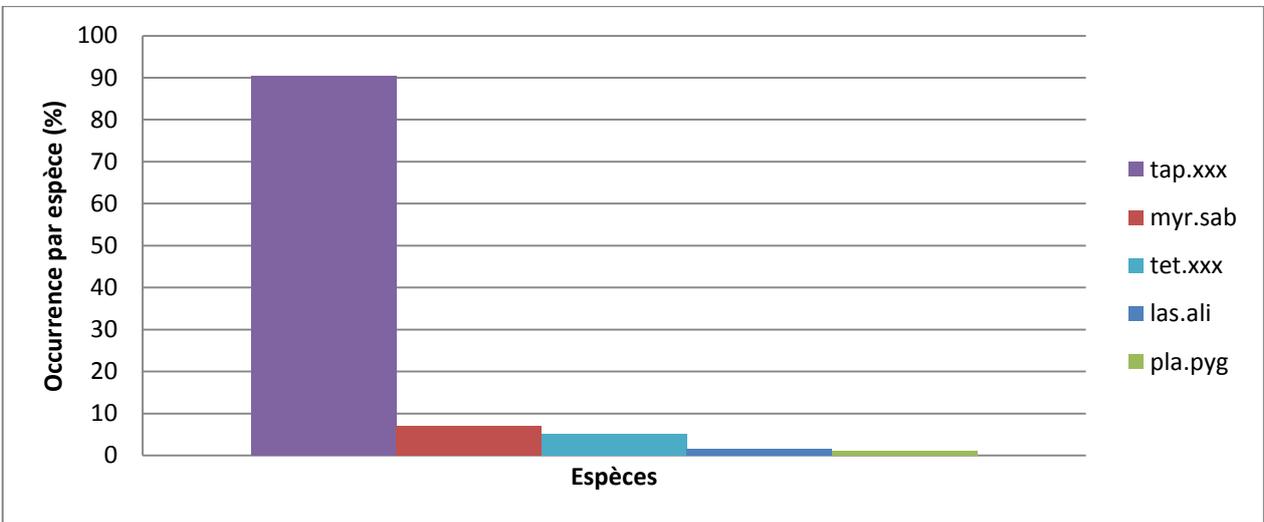
Figure 12 : Analyse en composantes principales, axes 1 et 2 expliquant respectivement 37% et 29% de la variabilité.



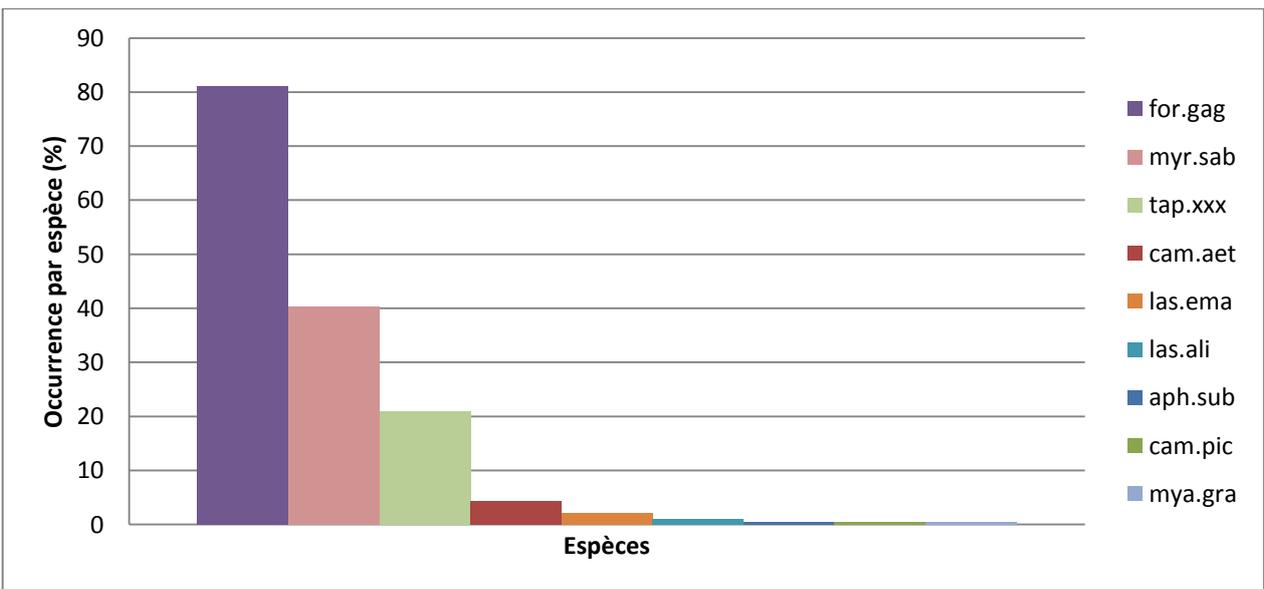
Figures 13 : Histogrammes des occurrences relatives par espèces sur le site Signalet.



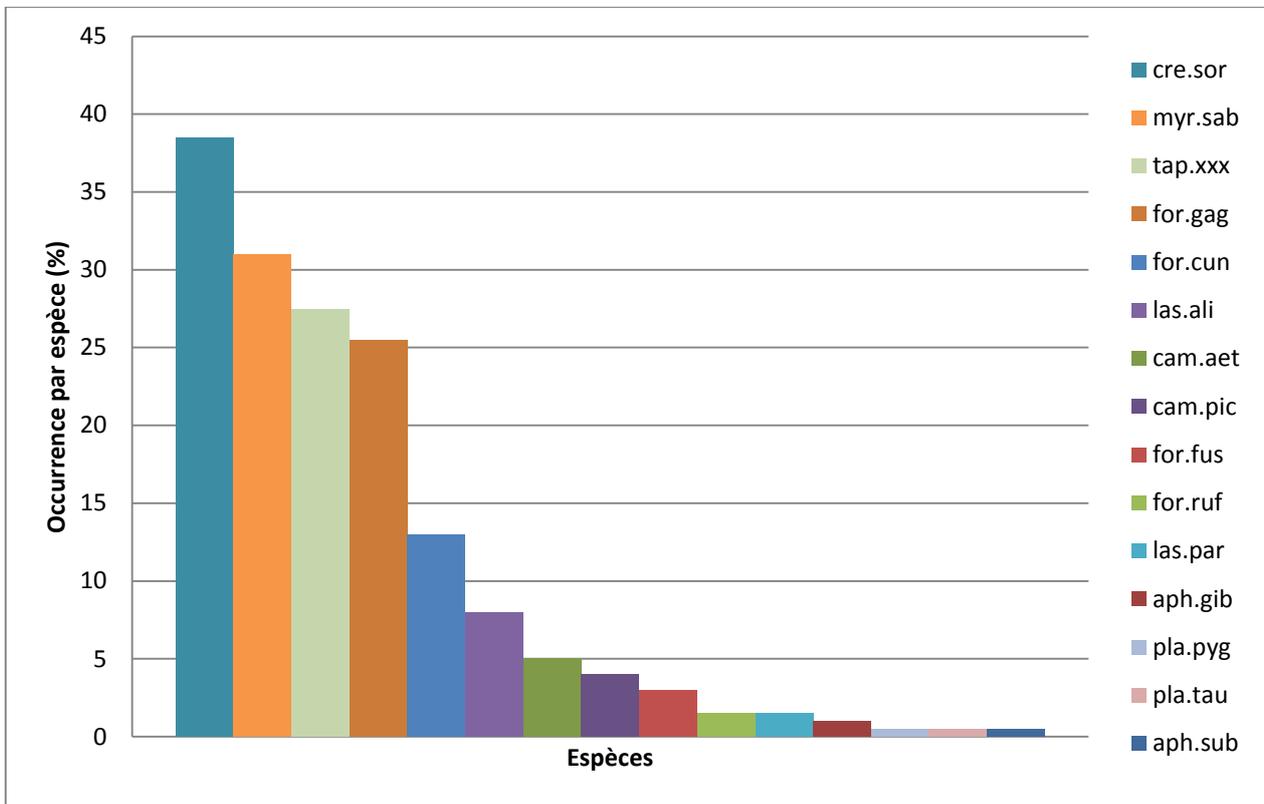
Figures 14 : Histogrammes des occurrences relatives par espèces sur le site Saint Julien.



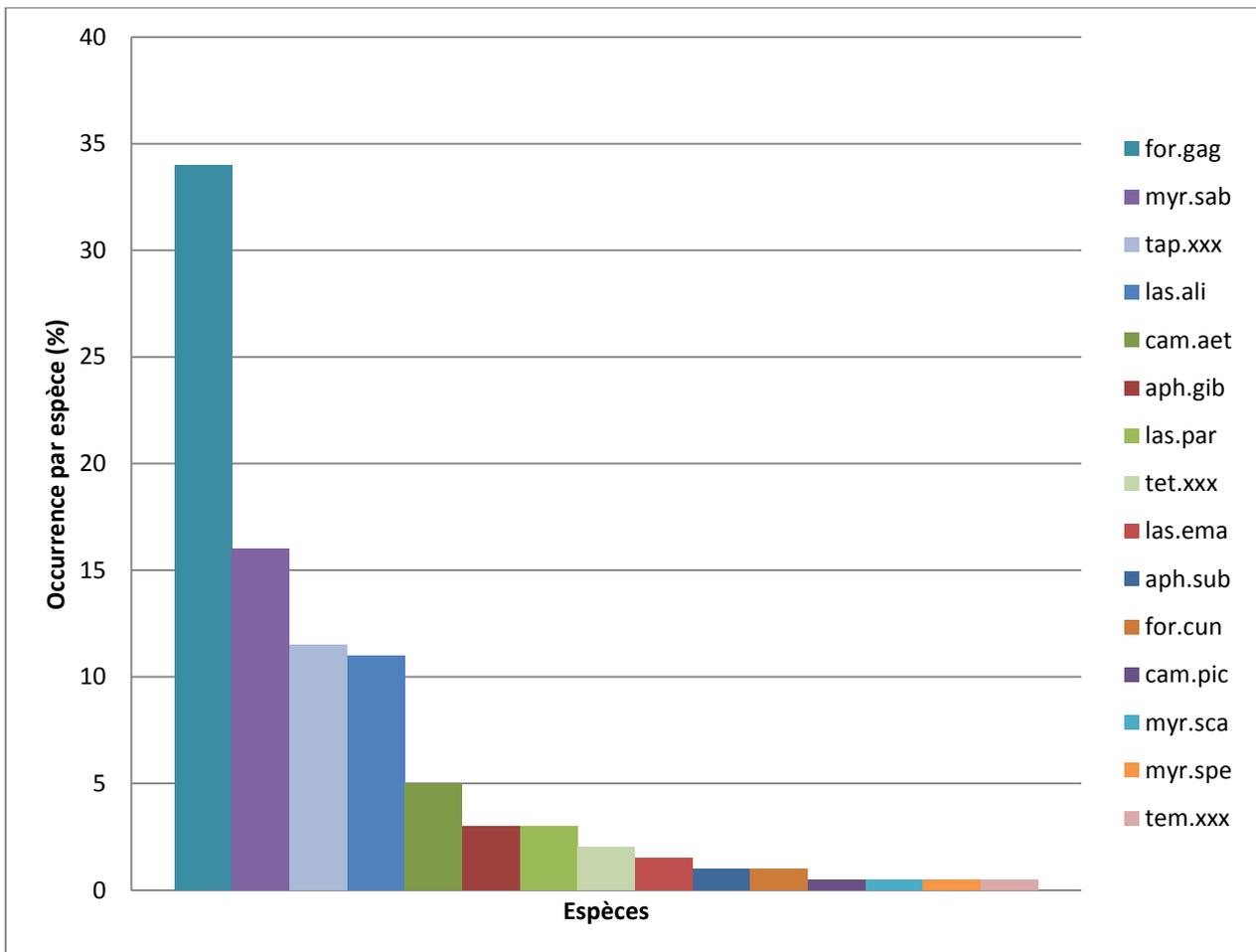
Figures 15 : Histogrammes des occurrences relatives par espèces sur le site Leyrieu.



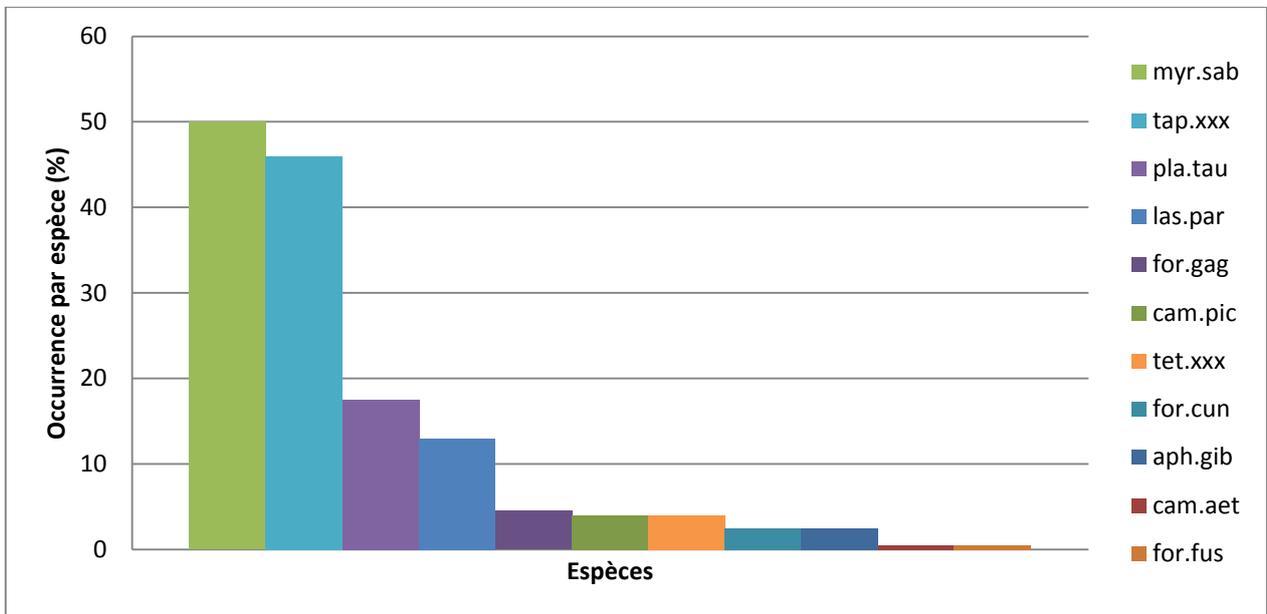
Figures 16 : Histogrammes des occurrences relatives par espèces sur le site Moras.



Figures 17 : Histogrammes des occurrences relatives par espèces sur le site Lempis.



Figures 18 : Histogrammes des occurrences relatives par espèces sur le site Carisieu.

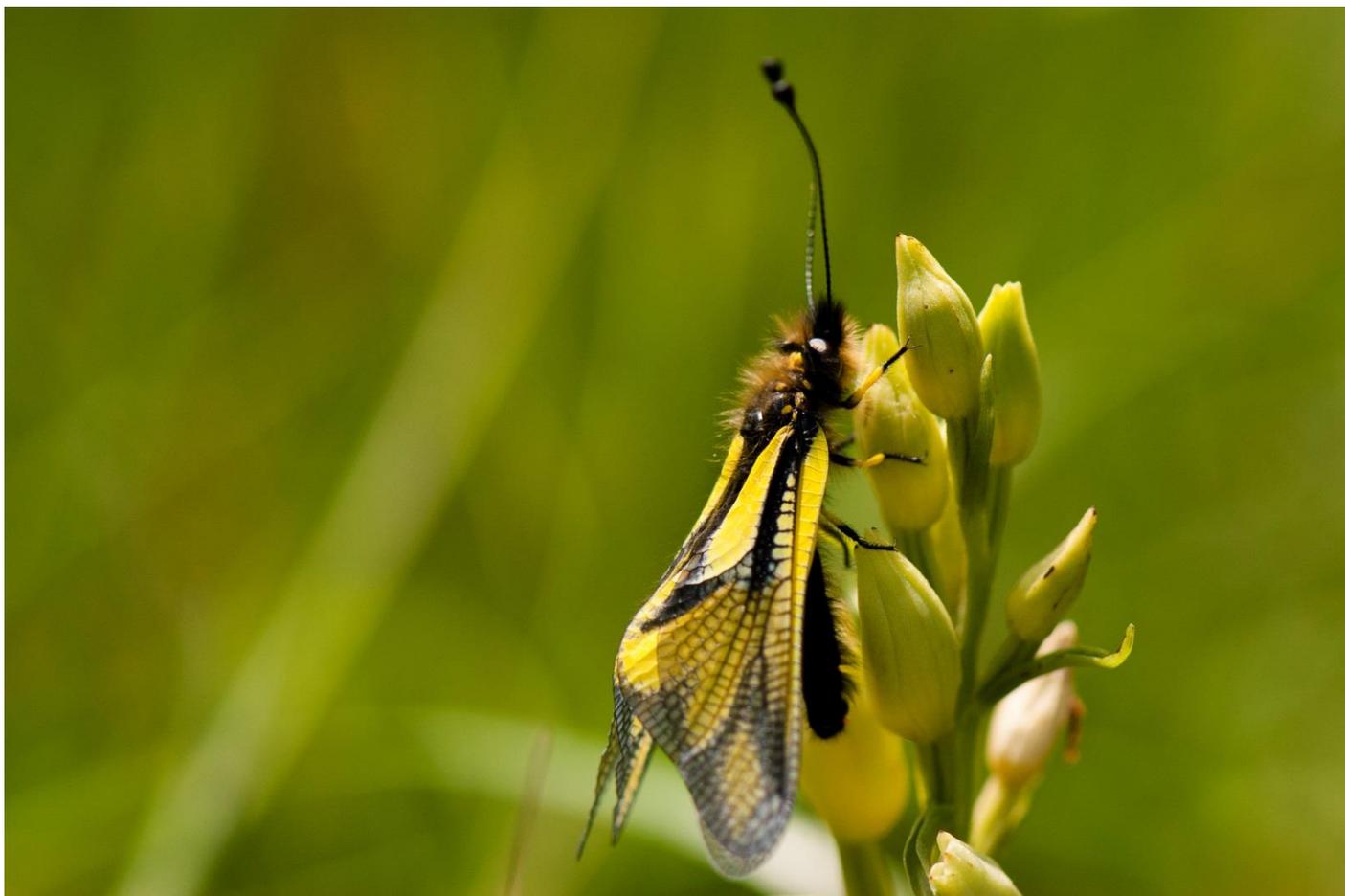


Figures 19 : Histogrammes des occurrences relatives par espèces sur le site Saint Baudille.

Photos 1 à 5 : Illustration de quelques espèces rares ou sensibles observées sur différents sites, respectivement *Libellula quadrimaculata*, *Libelloides coccajus*, *Orchis ustulata*, *Lycenidae sp*, *Callophrys rubi*.

© Théotime Colin 2013







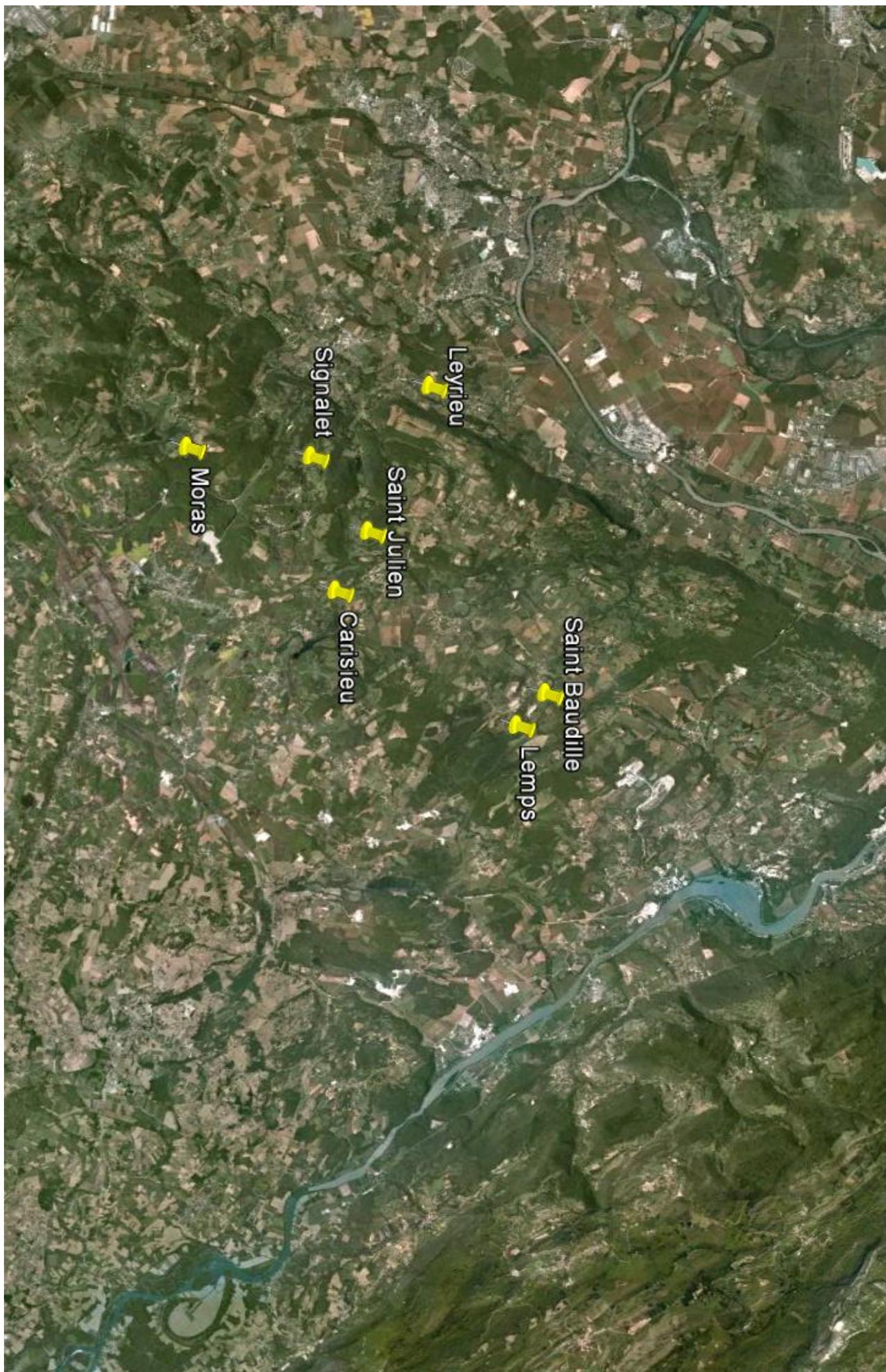


Figure 22 : Position des sites sur l'Isle Crémieu.